

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

SIMONA OVČEK

MAGISTRSKA NALOGA

ENOVITI MAGISTRSKI ŠTUDIJ FARMACIJA

Ljubljana, 2016

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

SIMONA OVČEK

**OCENA VARNOSTI BARVIL V VITAMINSKIH IN
MINERALNIH PRIPRAVKIH V PROSTI PRODAJI NA
SLOVENSKEM TRGU**

**ASSESSMENT OF THE COLORANT SAFETY IN VITAMIN
AND MINERAL PREPARATIONS THAT ARE
COMMERCIALY AVAILABLE ON THE SLOVENIAN
MARKET**

ENOVITI MAGISTRSKI ŠTUDIJ FARMACIJA

Ljubljana, 2016

Magistrsko nalogo sem opravljala na Fakulteti za farmacijo pod mentorstvom prof. dr. Marije Sollner Dolenc, mag. farm.

Zahvala

Zahvaljujem se mentorici, prof. dr. Mariji Sollner Dolenc, mag. farm., za strokovno pomoč in nasvete pri izdelavi magistrske naloge.

Družini in prijateljem se zahvaljujem za vse vzpodbude in podporo tekom študija.

Posebna zahvala pa gre mojemu Danku, ki mi vedno stoji ob strani. Hvala, ker verjameš vame.

Izjava

Izjavljam, da sem magistrsko nalogo izdelala samostojno pod mentorstvom prof. dr. Marije Sollner Dolenc, mag. farm.

Simona Ovčec

Predsednik komisije: izr. prof. dr. Mitja Kos, mag. farm.

Član komisije: asist. dr. Tilen Kranjc, mag. farm.

VSEBINA

1	UVOD.....	1
1.1	VITAMINSKI IN MINERALNI PRIPRAVKI.....	1
1.1.1	Prehranska dopolnila	1
1.1.1.1	Varnost, kakovost in učinkovitost prehranskih dopolnil.....	3
1.1.2	Zdravila brez recepta	3
1.2	BARVILA	5
1.2.1	Zgodovina uporabe barvil.....	5
1.2.2	Delitev barvil	6
1.2.3	Barvila v farmacevtskih pripravkih	7
1.2.4	Zakonodaja na področju barvil	9
1.2.4.1	Zakonodaja v Evropski Uniji.....	9
1.2.4.2	Zakonodaja v Sloveniji.....	11
1.2.4.3	Zakonodaja v ZDA.....	11
1.2.5	Poimenovanje barvil.....	12
1.2.6	Varnost barvil.....	13
1.2.6.1	Neželeni učinki uživanja barvil	15
2	NAMEN DELA	16
3	MATERIALI IN METODE	18
3.1	IZBOR VITAMINSKIH IN MINERALNIH PRIPRAVKOV	18
3.2	NAČIN PRIDOBIVANJA PODATKOV	18
3.2.1	Vir podatkov.....	18
3.2.2	Način določanja barvil	18
3.3	OCENA VARNOSTI BARVIL	20
3.3.1	Toksikološki profil.....	20
3.3.2	Izpostavljenost barvilom	21

3.4	STATISTIČNA OBDELAVA	21
4	REZULTATI IN RAZPRAVA.....	22
4.1	PREGLED VITAMINSKIH IN MINERALNIH PRIPRAVKOV	22
4.1.1	Označevanje barvil.....	23
4.1.2	Število barvil v pripravkih	23
4.1.3	Zastopanost posameznih barvil	26
4.1.4	Barvila v vitaminskih in mineralnih pripravkih, namenjenih otrokom.....	28
4.2	PREDSTAVITEV NAJPOGOSTEJE ZASTOPANIH BARVIL	30
4.2.1	Titanov dioksid	30
4.2.2	Železovi oksidi in hidroksidi	32
4.2.3	Riboflavin in riboflavin-5'-fosfat	34
4.3	BARVILA Z MOŽNIMI NEŽELENIMI UČINKI	36
4.3.1	Azo barvila.....	36
4.3.1.1	Tartrazin.....	38
4.3.1.2	Oranžno FCF (E 110).....	40
4.3.1.3	Rdeče 4R (E 124).....	41
4.3.1.4	Črno PN (E 151)	43
4.3.2	Kinolinsko rumeno (E 104)	44
4.4	OCENA VARNOSTI BARVIL V PREGLEDANIH PRIPRAVKIH.....	45
4.4.1	Izpostavljenost posameznim barvilom.....	51
5	SKLEP.....	54
6	LITERATURA.....	56
	PRILOGE.....	64

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica I: Barvila, potrebna certifikacije, dovoljena za uporabo v živilih, zdravilih in kozmetičnih izdelkih (barvila FD&C) (42)	13
Preglednica II: Primer določitve barvil v vitaminskih in mineralnih pripravkih	19
Preglednica III: Frekvenca vitaminskih in mineralnih pripravkov v skupini prehranskih dopolnil in skupini zdravil brez recepta glede na število barvil	25
Preglednica IV: Aritmetična sredina in standardni odklon števila barvil v vitaminskih in mineralnih pripravkih	25
Preglednica V: Frekvenca vitaminskih in mineralnih pripravkov z barvili in njihov delež glede na posamezno barvilo v skupini prehranskih dopolnil	27
Preglednica VI: Frekvenca vitaminskih in mineralnih pripravkov z barvili in njihov delež glede na posamezno barvilo v skupini zdravil brez recepta	28
Preglednica VII: Vitaminski in mineralni pripravki, namenjeni otrokom, iz skupine prehranskih dopolnil in vsebovana barvila	29
Preglednica VIII: Vitaminski in mineralni pripravki, namenjeni otrokom, iz skupine zdravil brez recepta in vsebovana barvila	29
Preglednica IX: Primerjava med posameznimi barvili v vrednosti LD ₅₀ in NOAEL	46
Preglednica X: Primerjava med posameznimi barvili v vrednosti ADI in možnimi neželenimi učinki	47
Preglednica XI: Vitaminski in mineralni pripravki, registrirani v Sloveniji kot zdravila brez recepta, in vsebovana barvila	50
Preglednica XII: Ocena TMDI posameznih barvil v prehranskih dopolnilih z deležem vrednosti ADI ter celokupni delež vrednosti ADI, dosežen z vnosom vseh ocenjenih živil (53)	52

KAZALO GRAFOV

Graf 1: Delež pripravkov z in brez barvil v skupini prehranskih dopolnil in skupini zdravil brez recepta.....	22
Graf 2: Delež pripravkov z barvili glede na število vsebovanih barvil	24
Graf 3: Delež pripravkov z barvili glede na število barvil v skupini prehranskih dopolnil in skupini zdravil brez recepta.....	24
Graf 4: Delež vitaminskih in mineralnih pripravkov z barvili glede na posamezno barvilo	26

KAZALO SLIK

Slika 1: Strukturna formula titanovega oksida	30
Slika 2: Strukturna formula rdečega železovega oksida	32
Slika 3: Strukturni formuli riboflavina (levo) in riboflavin-5'-fosfata (desno)	34
Slika 4: Strukturna formula tartrazina.....	38
Slika 5: Strukturna formula oranžnega FCF.....	40
Slika 6: Strukturna formula rdečega 4R.....	41
Slika 7: Strukturna formula črnega PN	43
Slika 8: Strukturna formula kinolinsko rumenega	44

KAZALO PRILOG

Priloga 1: Vrste naravnih barvil s pripadajočimi barvnimi odtenki ter primeri barvil, dovoljenimi za uporabo v EU.....	64
Priloga 2: Vrste sintetičnih barvil s pripadajočimi barvnimi odtenki ter primeri barvil, dovoljenimi za uporabo v EU	65
Priloga 3: Seznam pregledanih prehranskih dopolnil z barvili	66
Priloga 4: Seznam pregledanih zdravil brez recepta z barvili	72
Priloga 5: Seznam pregledanih prehranskih dopolnil brez barvil.....	73
Priloga 6: Seznam pregledanih zdravil brez recepta brez barvil	77
Priloga 7: Frekvenca vitaminskih in mineralnih pripravkov z barvili in njihov delež glede na posamezno barvilo.....	78

POVZETEK

Dopolnjevanje prehrane z vitamini in minerali postaja počasi že del vsakdana. Na prodajnih policah je čedalje več vitaminskih in mineralnih pripravkov, ki ji lahko uvrstimo med prehranska dopolnila ali zdravila brez recepta. Zaradi naraščajoče uporabe teh pripravkov je pomembno oceniti varnost posameznih sestavin, med katerimi zavzemajo posebno mesto tudi barvila. Barvilo je varno za uporabo, če dolgotrajno uživanje ne ogroža zdravja potrošnika. To zagotavljajo najvišje dovoljene vsebnosti barvil in določitev sprejemljivega dnevnega vnosa (acceptable daily intake; ADI) za posamezno barvilo. Področje barvil je v Sloveniji urejeno z ustreznimi direktivami in nacionalnimi predpisi. Zakonodaja določa, da se lahko v zdravilih uporabljajo barvila, ki so odobrena za uporabo v živilih. Pregledali smo 239 vitaminskih in mineralnih pripravkov, od tega 227 prehranskih dopolnil in 12 pripravkov, registriranih v Sloveniji kot zdravila brez recepta. Ugotovili smo, da skoraj polovica vseh pripravkov (49,8 %) ne vsebuje barvil, skoraj tri četrtine pripravkov z barvili (70,8 %) pa vsebuje samo po eno barvilo. Najpogosteje zastopana barvila so bila titanov dioksid (43,3 %), železovi oksidi in hidroksidi (22,5 %) ter riboflavin-5'-fosfat (15,8 %) in riboflavin (14,2 %), ki so se izkazala tudi kot najbolj varna barvila. Od barvil z največ možnimi neželenimi učinki smo zasledili sintetična azo barvila in kinolinsko rumeno (5,0 %), ki jih povezujejo z možnostjo pojava preobčutljivosti in vplivom na vedenje otrok. Azo barvila so bila prisotna predvsem v pripravkih iz skupine zdravil brez recepta, med katerimi sta bila dva pripravka namenjena otrokom in to najmlajšim. Omenjeni pripravki niso imeli navedenega opozorila, da lahko vsebovana barvila vplivajo na aktivnost in pozornost otrok, kot to zahteva zakonodaja. Na podlagi podatkov o izpostavljenosti posameznim barvilom v Sloveniji z vnosom prehranskih dopolnil smo zaključili, da je malo verjetno, da bi vnos barvil z vitaminskimi in mineralnimi pripravki presegel vrednost ADI za posamezno barvilo. Največje tveganje za neželene učinke tako predstavlja možna alergenost določenih barvil, saj lahko pride do reakcije tudi pri količinah, ki so pod vrednostjo ADI. Sklepamo, da barvila v pregledanih vitaminskih in mineralnih pripravkih ne predstavljajo tveganja za zdravje ljudi.

Ključne besede: *vitaminski in mineralni pripravki, barvila, varnost uporabe*

ABSTRACT

Supplementing food with vitamins and minerals is slowly but increasingly becoming a part of everyday life. There is a growing number of vitamin and mineral preparations making their way to the store shelves, which can be classified as food supplements or non-prescription medicines. Due to the increasing use of these products it is important to assess the safety of the individual components, among which the colorants also take a special place. The colorant is safe for use, if long-term usage does not compromise the health of the consumer. This is provided by the maximum permitted levels of colorants and the specification of acceptable daily intake (ADI) for a particular colorant. In Slovenia, colorants are regulated by the relevant directives and national regulations. The legislation stipulates that the colorants approved for use in food, can also be used in medications. We examined 239 vitamin and mineral preparations, of which 227 were dietary supplements and 12 were preparations registered in Slovenia as non-prescription medicines. We found that almost half of the preparations (49,8 %) does not contain colorants and almost three-quarters of the preparations with colorants (70,8 %) contain only one colorant. The most commonly represented colorants were titanium dioxide (43,3 %), iron oxides and hydroxides (22,5 %), riboflavin-5'-phosphate (15,8 %) and riboflavin (14,2 %), which were also shown as most safe. From colorants with the most potentially adverse effects, we have found synthetic azo colorants and quinoline yellow (5,0 %), which are linked with the possibility of occurrence of sensitization and impact on children's behavior. The azo colorants have been present in particular in the preparations from the group of non-prescription medicines, among which were two intended for children, even to the youngest. The mentioned preparations did not have a warning statement saying that the contained colorants can have an impact on the activity and attention in children, as required by the law. Based on the data of the exposure to the particular colorant with the intake of food supplements in Slovenia, we concluded that it is unlikely that the intake of colorants with vitamin and mineral preparations could exceed the ADI value for the particular colorant. The greatest risk for the adverse effects represents the potential allergenicity of certain colorants, as they can cause reactions even if the intake is below the ADI value. We conclude that the colorants in the examined vitamin and mineral preparations do not pose a risk to the human health.

Key words: *vitamin and mineral preparations, colorants, safety use*

SEZNAM OKRAJŠAV

ADI – acceptable daily intake (slov. sprejemljiv dnevni vnos)

ANS – Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food (slov. Svet za aditive za živila in hranilne vire, dodane živilom)

CCFAC – Codex Committee on Food Additives and Contaminants (slov. Odbor za živilske aditive in kontaminante Codex Alimentarius)

EFSA – European Food Safety Authority (slov. Evropska agencija za varnost hrane)

EU – Evropska Unija

FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations (slov. Organizacija Združenih narodov za prehrano in kmetijstvo)

FD&C zakon – Zvezni zakon o živilih, zdravilih in kozmetičnih izdelkih

FDA – Food and Drug Administration (slov. Urad za hrano in zdravila)

GRAS – generally recognized as safe (slov. splošno znano kot varno)

JAZMP – Javna agencija za zdravila in medicinske pripomočke

JECFA – Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (slov. Skupni strokovni odbor za živilske dodatke)

NCI – National Cancer Institute (slov. Nacionalni inštitut za raka)

NIJZ – Nacionalni inštitut za javno zdravje

NOAEL – no observed adverse effect level (slov. najvišji odmerek, pri katerem ni opaznih neželenih učinkov)

SCCNFP – Znanstveni odbor za kozmetične izdelke in neprehrambne proizvode, ki so namenjeni potrošnikom

SCF – Scientific Committee on Food (slov. Znanstveni odbor za živila)

TMDI – theoretical maximum daily intake (slov. teoretični največji dnevni vnos)

ZDA – Združene države Amerike

ZZdr-2 – Zakon o zdravilih (Uradni list RS, št. 17/2014)

WHO – World Health Organization (slov. Svetovna zdravstvena organizacija)

1 UVOD

1.1 VITAMINSKI IN MINERALNI PRIPRAVKI

Količina hrane, ki jo zaužijemo, ni bila nikoli tako velika, kot je danes. Kljub temu pa je zaradi hitrega načina življenja in prehranjevanja včasih težko zadostiti vsem potrebam po življenjsko pomembnih snoveh. Ljudje se vedno bolj zavedajo pozitivnega vpliva dopolnjevanja prehrane z vitamini in minerali, ki so nujni za zdravo in pravilno delovanje našega organizma, čeprav jih potrebujemo le v majhnih količinah. Prodaja in uporaba vitaminskih in mineralnih pripravkov naraščata, izbiramo pa lahko med posameznimi vitamini in minerali ter različnimi kombinacijami. Vitaminske in mineralne pripravke, ki so v prosti prodaji na slovenskem trgu, lahko uvrstimo med prehranska dopolnila ali med zdravila brez recepta.

1.1.1 Prehranska dopolnila

Po Pravilniku o prehranskih dopolnilih (Uradni list RS, št. 66/2013) so prehranska dopolnila živila, katerih namen je dopolnjevati običajno prehrano. So koncentrirani viri posameznih ali kombiniranih hranil ali drugih snovi s hranilnim ali fiziološkim učinkom, ki se dajejo v promet v obliki kapsul, pastil, tablet in drugih podobnih oblikah, v vrečkah s praškom, v ampulah s tekočino, v kapalnih stekleničkah in drugih podobnih oblikah s tekočino in praškom, ki so oblikovane tako, da se jih lahko uživa v odmerjenih majhnih količinskih enotah. Lahko vsebujejo vitamine, minerale, aminokisline, maščobne kisline, vlaknine, rastline in rastlinske izvlečke, mikroorganizme ter druge snovi s hranilnim ali fiziološkim učinkom, pod pogojem, da je njihova varnost v prehrani ljudi znanstveno utemeljena. Raziskava javnega mnenja o uporabi prehranskih dopolnil je pokazala, da je glavni razlog zakaj ljudje posegajo po prehranskih dopolnilih zmanjšana odpornost organizma. Slovenci največ uživajo med in čebelje pridelke, vitaminski in mineralni pripravki pa so na drugem mestu. Verjetnost uživanja slednjih narašča tako z višino izobrazbe kot z višino dohodka (1, 2).

Področje prehranskih dopolnil je v Sloveniji urejeno z ustreznimi uredbami in nacionalnimi predpisi. Pravilnik o prehranskih dopolnilih povzema Direktivo Evropskega

parlamenta in Sveta 2002/46/ES o približevanju zakonodaj držav članic o prehranskih dopolnilih in je začel veljati leta 2013. Pomembna novost tega pravilnika je, da za prehranska dopolnila, ki so prvič dana v promet v Sloveniji, ni potrebna več prva prijava prehranskega dopolnila in Ministrstvo za zdravje ne vodi več seznama prijavljenih prehranskih dopolnil, ki so v prometu v Sloveniji. Po tem pravilniku se prehranskim dopolnilom ne sme pripisovati zdravilnih učinkov, torej se jih ne sme predstavljati kot zdravilo ter uporabnike zavajati, da z uravnoteženo prehrano ne morejo zadostiti vsem potrebam po vitaminih in mineralih. Označba prehranskega dopolnila mora tako vsebovati tudi navedbo: *»Prehransko dopolnilo ni nadomestilo za uravnoteženo in raznovrstno prehrano.«* (1, 3) Za zagotavljanje varstva potrošnikov je bila sprejeta tudi Uredba Evropskega parlamenta in Sveta 1924/2006/ES o prehranskih in zdravstvenih trditvah na živilih, ki ureja uporabo omenjenih trditve na živilih pri komercialnem obveščanju potrošnikov. Prehranske trditve naj bi kazale na to, da ima živilo posebno ugodne prehranske lastnosti, zdravstvene trditve pa, da obstaja povezava med prehranskim dopolnilom in zdravjem, na primer *»prispeva k delovanju imunskega sistema«* (3, 4). Katere vitaminske oziroma mineralne snovi se lahko uporabijo pri proizvodnji prehranskih dopolnil določa Uredba Komisije 1170/2009/ES o spremembi Direktive 2002/46/ES in Uredbe Evropskega parlamenta in Sveta 1925/2006/ES glede seznamov vitaminov in mineralov ter njihovih oblik, ki se lahko dodajo živilom, vključno s prehranskimi dopolnili (3, 5).

Za prehranska dopolnila kot živila pa velja tudi osnovna živilska zakonodaja, in sicer Uredba Evropskega parlamenta in Sveta 178/2002/ES o določitvi splošnih načel in zahtevah živilske zakonodaje, ustanovitvi Evropske agencije za varnost hrane (European Food Safety Authority; v nadaljevanju EFSA) in postopkih, ki zadevajo varnost hrane ter Zakon o zdravstveni ustreznosti živil in izdelkov ter snovi, ki prihajajo v stik z živili (Uradni list RS, št. 52/2000). Po tej zakonodaji morajo biti vsa prehranska dopolnila skupaj z aditivi zdravstveno ustrezna in varna za uživanje z namenom varovanja zdravja ljudi. Nadzor nad prehranskimi dopolnili v Sloveniji izvaja Zdravstveni inšpektorat Republike Slovenije (ZIRS) (3, 6).

V Združenih državah Amerike (v nadaljevanju ZDA) je področje prehranskih dopolnil urejeno z Zakonom o prehranskih dopolnilih in izobraževanju (Dietary Supplement Health and Education Act; DSHEA). Po tem zakonu prehranska dopolnila več ne potrebujejo

dovoljenja za promet s strani Urada za hrano in zdravila (Food and Drug Administration; v nadaljevanju FDA), saj je proizvajalec dolžan sam zagotoviti varnost prehranskega dopolnila in poskrbeti, da predstavitev in morebitne trditve na izdelku niso zavajajoče. Zakon tudi zahteva, da mora biti vsaka strukturno-funkcijska trditev označena s trditvijo o izključitvi odgovornosti FDA, ki se glasi: *»Ta izjava ni bila ocenjena s strani FDA. Ta izdelek ni namenjen diagnozi, terapiji, zdravljenju ali preprečevanju katerekoli bolezni.«* (7)

1.1.1.1 Varnost, kakovost in učinkovitost prehranskih dopolnil

Prehranska dopolnila so podobno kot zdravila na voljo v različnih farmacevtskih oblikah, zato se jih pogosto zamenjuje z njimi, čeprav obstajajo med obojimi bistvene razlike v namenu uporabe in dokazani zdravilni učinkovitosti. Zdravila morajo zadostiti strogim pogojem o varnosti, kakovosti in učinkovitosti, prehranska dopolnila pa morajo izpolniti le zahteve o varnosti, medtem ko je učinkovitost težko opredeliti. Ne moremo reči, da zdravijo ali preprečujejo bolezni, kvečjemu imajo le hranilne in fiziološke učinke. Nekatera prehranska dopolnila naj bi s temi učinki zmanjševala tveganje za nastanek bolezni, medtem ko zdravila bolezni zdravijo in preprečujejo. Med zmanjševanjem tveganja za nastanek bolezni in preprečevanjem bolezni pa ni jasne meje. Zdravstvene trditve, navedene na embalaži prehranskih dopolnil lahko zlahka zavedejo uporabnika, zato resničnost teh trditev presoja EFSA in ne več proizvajalci. Vitaminski in mineralni pripravki se lahko razvrščajo med prehranska dopolnila ali zdravila, kar ljudi še dodatno zmede, saj gre za enake učinkovine, ki pa so v prehranskih dopolnilih ponavadi v manjših količinah kot v zdravilih. Za dodatno zmedo med ločevanjem tovrstnih zdravil in prehranskih dopolnil lahko deluje tudi samo mesto izdaje, ki je pogosto prav lekarna, njo pa ljudje povezujejo z izdajo zdravil (3, 8).

1.1.2 Zdravila brez recepta

Po Zakonu o zdravilih (Uradni list RS, št. 17/2014; v nadaljevanju ZZdr-2) je zdravilo vsaka snov ali kombinacija snovi, ki so predstavljene z lastnostmi za zdravljenje ali preprečevanje bolezni pri ljudeh ali živalih. Za zdravilo se šteje tudi vsaka snov ali kombinacija snovi, ki se lahko uporablja pri ljudeh ali živalih ali se daje ljudem ali živalim z namenom, da bi se ponovno vzpostavile, izboljšale ali spremenile fiziološke funkcije

prek farmakološkega, imunološkega ali presnovnega delovanja ali da bi se določila diagnoza bolezni (9). Zdravila se glede na predpisovanje razvrščajo v zdravila, za katera je potreben zdravniški recept, in zdravila, za katera zdravniški recept ni potreben. Slednja so po Pravilniku o razvrščanju, predpisovanju in izdajanju zdravil za uporabo v humani medicini (Uradni list RS, št. 86/2008) namenjena predvsem za samozdravljenje, ki je omejeno na preprečevanje, lajšanje ter odpravljanje simptomov in zdravstvenih težav, ki ne zahtevajo posvetovanja z zdravnikom. Takšna zdravila morajo imeti majhno toksičnost, predstavljati morajo majhno tveganje za resne neželene učinke ter ne smejo imeti interakcij s splošno uporabljanimi zdravili. Zdravila brez recepta so na trgu dostopna vsem potrošnikom, medtem ko se vitaminski in mineralni pripravki, registrirani kot zdravila na recept, predpisujejo s strani zdravnika le določenim populacijam (na primer vitamina A in D otrokom) ali ob dokazanem pomanjkanju določenih vitaminov oziroma mineralov. Prodaja in uporaba zdravil brez recepta nista nadzorovani, zato je ocena varnosti posameznih sestavin pri tej skupini zdravil toliko bolj pomembna. Glede na mesto izdaje razvrščamo zdravila brez recepta na tista, ki se izdajajo samo v lekarnah, in tista, ki se izdajajo v lekarnah in specializiranih prodajalnah (10).

Z uveljavitvijo ZZdr-2 je prenehal veljati Pravilnik o razvrstitvi vitaminskih in mineralnih izdelkov za peroralno uporabo, ki so v farmacevtskih oblikah, med zdravila (Uradni list RS, št. 86/2008), zato je za primer mejnih izdelkov (med prehranskimi dopolnili in zdravili) Javna agencija Republike Slovenije za zdravila in medicinske pripomočke (v nadaljevanju JAZMP) pripravila smernice, ki vključujejo merila tega pravilnika. V primeru dvoma, ali se pripravek razvršča med prehranska dopolnila ali med zdravila, se uporabljajo tudi določbe 7. člena ZZdr-2, po katerih se s posebnim ugotovitvenim postopkom ugotavlja kam spada pripravek. Pri tem so pomembni kakovostna in količinska sestava, namen in način uporabe, morebitni zdravilni učinki ter predstavitev pripravka uporabnikom z ovojnino ali promocijskimi materiali. Če je pripravek predstavljen z lastnostmi za zdravljenje ali preprečevanje bolezni in bolezenskih stanj, se ga praviloma obravnava kot zdravilo. V tem primeru ne sme biti v prometu, dokler se ga ne registrira oziroma dokler se zanj ne pridobi dovoljenje za promet z zdravilom. Smernice določajo tudi dnevne odmerke vitaminov in mineralov, ki se ne smejo prekoračiti v prehranskih dopolnilih. Nadzor nad zdravili opravlja farmacevtsko nadzorstvo, ki deluje v okviru JAZMP (3, 9, 11).

1.2 BARVILA

Barva vpliva na vsak trenutek našega življenja, od tega kaj bomo oblekli, do tega kaj bomo zaužili. Je navadno prva lastnost izdelka, ki jo opazimo, in vpliva na našo percepcijo kakovosti. Vsi smo občutljivi na barvo hrane, ki lahko napove celo okus in aromo, obstajajo pa tudi dokazi, da lahko barva okolja vpliva na razpoloženje. Barva je torej tesno povezana z našimi pričakovanji, zato predstavlja dodajanje barvil način kako tem pričakovanjem zadostiti (12, 13).

1.2.1 Zgodovina uporabe barvil

Naravno prisotna barvila iz rastlin in mineralnih virov so se dodajala hrani, zdravilom in se uporabljala v kozmetičnih izdelkih že od davnine. Za barvanje so uporabljali papriko, kurkumo, žafran, železove in svinčeve okside ter bakrov sulfat. Egipčanski slaščičarji so dodajali naravne ekstrakte in vino, da bi izboljšali izgled svojih izdelkov, že okrog leta 1500 pred našim štetjem. Z industrijsko revolucijo se je strmo razvijala živilska industrija ter z njo rasla količina predelane hrane. Barvila so se dodajala, da bi prikrija slabo kakovost, pri čemer so uporabljali tudi toksične snovi, kot na primer najbolj šokantni od njih rdeč svinec (Pb_3O_4) in vermilion (HgS), ki sta se rutinsko uporabljala za barvanje sirov in slaščic, ter bakrov arzenit ($CuHAsO_3$) za ponovno barvanje že uporabljenih listov čaja (13, 14).

V drugi polovici 19. stoletja je prišlo do odkritja sintetičnih organskih barvil, ki so jih pridobivali iz premogovega katrana. Nenadzorovana uporaba barvil kot aditivov se je razširila tako v ZDA in Evropi v mnogih popularnih izdelkih, kot so kečap, gorčica, žele bomboni in vino. Sintetična barvila je bilo lažje proizvesti, bila so cenejša, imela boljše sposobnosti obarvanja in niso vplivala na okus izdelka. Nekatera od teh barvil niso nikoli testirali na toksičnost in neželene učinke, zato so z njihovo uporabo začeli rasti tudi pomisleki glede varnosti. To je vodilo do uvedbe različnih regulativ, tako v ZDA kot v Evropi, ki so do danes drastično zmanjšale uporabo teh barvil. Prvi zakoni so sledili principu negativnih list barvil, ki niso bila dovoljena za uporabo. V 20. stoletju pa sta izboljšanje kemijske analize in razvoj testov za določanje toksičnih snovi v hrani vodila do zamenjave negativnih s pozitivnimi listami barvil, ki se lahko uporabljajo v proizvodnji ter za izboljšanje senzoričnih lastnosti hrane. Pozitiven način razvrščanja pomeni, da so bile

snovi, namenjene uživanju, testirane na varnost ter da morajo ustrezati specifičnim kriterijem čistosti pred odobritvijo s strani ustreznih organov (13, 14, 15).

Leta 1906 so ZDA z Zakonom o kakovosti hrane in zdravil (Pure Food and Drug Act) zmanjšale število dovoljenih sintetičnih barvil iz 700 na 7. V Evropi pa je prva Direktiva Sveta 62/2645/EGS o približevanju zakonodaj držav članic o barvilih, ki se smejo uporabiti v živilih, namenjenih za prehrano ljudi iz leta 1962 odobrila 36 barvil, od tega 20 naravnega izvora in 16 sintetičnih, ni pa določila niti mejnih vrednosti, niti živil, v katerih se lahko uporabljajo. Barvila, ki so bila odobrena za uporabo v živilih po tej direktivi, so se lahko uporabljala tudi v zdravilih, kar je določila Direktiva Sveta 78/25/EGS o približevanju zakonov držav članic v zvezi z barvili, ki se lahko dodajajo zdravilom (15, 16, 17).

1.2.2 Delitev barvil

Barvila lahko delimo glede na izvor, kemijsko strukturo in topnost. Glede na izvor jih delimo na naravna in sintetična barvila, glede na kemijsko strukturo na organska barvila in njihove lake (angl. lakes) ter anorganska ali mineralna barvila, glede na topnost pa jih delimo na barvila, topna v vodi, in pigmente, ki se v vodi ne topijo (18, 19).

Naravna barvila

Predstavljajo najbolj raznoliko skupino barvil glede na njihove kemijske in fizikalne lastnosti. Večinoma se pridobivajo z ekstrakcijo iz rastlinskih in živalskih virov, nekatera izmed njih pa lahko pridobivamo tudi sintezno. Na svetlobi niso tako stabilna kot ostale skupine barvil, izkazujejo pa visoko sprejemljivost. Težko jih je standardizirati, njihova moč obarvanja je slabša in lahko variira, poleg tega pa so tudi težje dobavljiva in dražja od sintetičnih barvil. Nekatera lahko izkazujejo tudi fiziološko aktivnost. Tako naj bi bili karotenoidi uspešni pri zdravljenju raka in artritisa, antocianini pri kardiovaskularnih boleznih in hipertenziji, klorofili naj bi delovali antimutageno in antikancerogeno, betalaini antimikrobno in antivirusno, kurkuminoidi pa antiinflamatorno. Vrste naravnih barvil s pripadajočimi barvnimi odtenki in primeri barvil, ki so dovoljeni za uporabo v Evropski Uniji (v nadaljevanju EU), smo prikazali v Prilogi 1 (13, 18, 19, 20, 21).

Organska barvila

Gre za sintetične kemijske substance, ki so topne v vodi, propilen glikolu in glicerolu. Imajo močnejšo moč obarvanja kot naravna barvila in obstajajo v več različnih odtenkih ter so ponavadi cenejša. Imajo dobre fizikalne lastnosti in sposobnost identičnega obarvanja različnih sistemov, moč obarvanja pa je neposredno odvisna od koncentracije barvila. Najpogostejši problemi, ki lahko nastanejo pri uporabi topnih barvil so razbarvanje v prisotnosti askorbinske kisline, mikroorganizmov, kovinskih ionov in zbledenje barve zaradi reakcije s proteini pri visokih temperaturah. Vrste sintetičnih barvil s pripadajočimi barvnimi odtenki in primeri barvil, ki so dovoljeni za uporabo v EU, smo prikazali v Prilogi 2 (13, 18, 21, 22).

Aluminijevi laki

Nastanejo med reakcijo barvil z aluminijem, natančneje aluminijevim trioksidom (Al_2O_3), ob prisotnosti vode. Nastala barva je netopna v vodi in ima določene prednosti pri uporabi v pripravkih, ki vsebujejo maščobe ali pripravkih, ki jim primanjkuje vode za raztopitev v vodi topnih barvil. Hkrati omogočajo hitrejše sušenje in tanjše obloge zaradi motnosti. Laki naj bi bili v primerjavi s topnimi barvili bolj stabilni na svetlobi, nestabilni pa so v močno kislih pogojih, ki preprečijo interakcijo med barvilom in aluminijem, zaradi česar lahko pride do spremembe barve. Prispevajo tudi k dodatnemu vnosu aluminija v telo, ki je nevrotoksičen, kar je še posebej potrebno upoštevati v izdelkih za otroke (13, 18, 23).

Anorganska ali mineralna barvila

So netopna v vodi in se podobno kot naravna barvila uporabljajo že od nekdaj, a so jih zaradi toksičnih učinkov mnogih od njih hitro nadomestila sintetična barvila. Njihova motnost omogoča povečanje stabilnosti na svetlobi, vendar pa nudijo le omejen razpon odtenkov. Danes so najbolj pomembni rumeni in rdeči železovi oksidi ter titanov dioksid (13, 19).

1.2.3 Barvila v farmacevtskih pripravkih

Barvila dajejo farmacevtskim pripravkom značilen in prepoznaven videz, psihologija barv celo pravi, da lahko vplivajo tudi na učinkovitost terapije. Lahko se dodajajo tako tabletam kot kapsulam, peroralnim raztopinam in suspenzijam ter dermalnim farmacevtskim oblikam (18).

Barvila se lahko dodaja farmacevtskim pripravkom predvsem zaradi naslednjih razlogov:

Povečanje sprejemljivosti

Z obarvanjem lahko popravimo neenakomernost posameznih serij ter spremenimo neprivlačen pripravek v bolj sprejemljivega za pacienta. Na ta način povečamo komplianco, saj se pacienti pri prepoznavanju določenega zdravila in njegove jakosti dostikrat zanašajo predvsem na barvo.

Percepcija arome

Določena barva pripravka lahko povzroči pričakovanje določenega okusa.

Lažja identifikacija

Barva omogoča lažjo prepoznavo pripravka med proizvodnjo in distribucijo. Različne barve različnih jakosti posameznega zdravila pripomorejo k zmanjšanju napak pri uporabi, prav tako pa podobne barve lahko kažejo na podobne izdelke različnih proizvajalcev.

Standardizacija pripravkov

Naravno prisotna barvila v pripravkih lahko variirajo, kar se da izenačiti z ustreznimi barvili.

Povečanje stabilnosti

Nekatera netopna barvila imajo dodatno prednost pri oblaganju tablet oziroma kapsul, saj zagotavljajo koristno motnost, ki lahko pripomore k stabilnosti na svetlobo občutljivih aktivnih snovi. To so predvsem železovi oksidi, titanov dioksid in nekateri aluminijevi laki.

Preprečevanje ponarejanja

Uporaba enakih barv in barvnega tiskanja za posamezen pripravek lahko zmanjša tveganje za ponarejanje (18, 24).

Idealno barvilo naj bi bilo netoksično in brez fiziološkega učinka ter brez škodljivih nečistot. To naj bi bila znana kemijska spojina, kajti le tako bo njegova moč obarvanja zanesljiva ter analiza izvedljiva in lažja. Barvilo mora imeti visoko moč obarvanja, da so potrebne le majhne količine, zaželene so neobčutljivost na svetlobo, visoke temperature, hidrolizo in mikroorganizme, da ostane barvilo stabilno med shranjevanjem. Pomembne lastnosti so tudi neobčutljivost za oksidacijo in redukcijo ter spremembe v pH-vrednosti, kompatibilnost s pripravkom, v večini primerov je zaželena tudi takojšnja topnost v vodi. Idealno barvilo naj ne bi motilo testov in določanja vsebnosti učinkovine v pripravku, prav

tako naj bi bilo brez objektivnega okusa in vonja, pomembna pa sta tudi takojšnja dobavljivost in nizka cena. Naravna barvila so za razliko od sintetičnih v večini teh aspektov manj zadovoljiva (18).

1.2.4 Zakonodaja na področju barvil

Za ustrezno obarvanje je potrebna le majhna koncentracija barvila, ki pa mora biti znotraj predpisanih mej, saj lahko drugače vodi do resne toksičnosti, ki je nevarna predvsem za pediatrično in geriatrično populacijo. Varnost uporabe barvil je regulirana po celem svetu z različnimi zakoni in uredbami, regulatorni organi pa z izdajo pozitivnih list barvil določajo, katera barvila so bila ustrezno testirana in odobrena za uporabo. Določila za uporabo barvil v prehranskih dopolnilih so pogosto ločena od tistih za uporabo v zdravilih (18, 14).

1.2.4.1 Zakonodaja v Evropski Uniji

Leta 1994 je direktivo iz leta 1962 nadomestila Direktiva Evropskega parlamenta in Sveta 94/36/ES o barvilih za uporabo v živilih, ki je na podlagi ocene Znanstvenega odbora za živila (Scientific Committee on Food; v nadaljevanju SCF), s pozitivne liste odstranila 7 sintetičnih in 1 naravno barvilo. Barvila so po tej direktivi razvrščena glede na evropski E-sistem označevanja od E 100 do E 180. Za barvila se ne štejejo posušena ali zgoščena živila in arome, katerih barvni učinek je drugotnega pomena in so živilu dodana predvsem zaradi arome in okusa ali hranilnih lastnosti, kot so na primer paprika, kurkuma in žafran. Direktiva določa tudi živila, v katerih se smejo posamezna barvila uporabljati, barvila za uporabo samo za določene namene ter mejne vrednosti barvil (25). Merila čistosti za barvila, navedena v tej direktivi, je nadalje določila Direktiva Komisije 95/45/ES o določitvi posebnih meril čistosti v zvezi z barvili za uporabo v živilih (26). Leta 2008 je bila Direktiva 94/36/ES razveljavljena in nadomeščena z Uredbo Evropskega parlamenta in Sveta 1333/2008/ES o aditivih za živila, barvila in pogoji za njihovo uporabo, ki so skladni s to uredbo in odobreni s prejšnjo direktivo, pa se vključijo v seznam Skupnosti aditivov za živila. Po tej uredbi so barvila pripravki iz živil ter druge užitne izvorne snovi naravnega izvora, pridobljene s fizično in/ali kemično ekstrakcijo, ki dodajajo ali obnovijo barvo živila in se običajno kot take ne zaužijejo kot živilo ter se običajno ne uporabljajo kot tipične sestavine živil. Uredba določa tudi posebne pogoje za barvila, in sicer mora barvilo, da bi bilo vključeno na seznam, izpolnjevati vsaj enega od naslednjih namenov:

povrnitev prvotnega videza živilu, zagotovitev privlačnejše vizualne podobe živila in/ali obarvanje brezbarvnih živil. Dodane so bile tudi zahteve za označevanje živil, ki vsebujejo določena barvila za živila, in sicer je potrebno pri živilih, ki vsebujejo barvila oranžno FCF (E 110), kinolinsko rumeno (E 104), azorubin (E 122), rdeče AC (E 129), tartrazin (E 102) in rdeče 4R (E 124) ob imenu ali E-številu barvila navesti opozorilo »*Lahko škodljivo vpliva na aktivnost in pozornost otrok.*« (27) Direktiva 95/45/ES je bila razveljavljena in nadomeščena z Direktivo Komisije 2008/128/ES o določitvi posebnih meril čistosti v zvezi z barvili za uporabo v živilih (28). Leta 2011 je bil z Uredbo Komisije 1129/2011/EU o spremembi Priloge II k Uredbi 1333/2008/ES z vzpostavitvijo seznama Unije aditivov za živila vzpostavljen seznam EU za aditive (21). Uredba Komisije 231/2012/EU o določitvi specifikacij za aditive za živila, navedene v prilogah II in III k Uredbi 1333/2008/ES pa je določila potrebne specifikacije za aditive. S to uredbo se je razveljavila Direktiva 2008/128/ES (29).

Na področju zdravil so izkušnje že v osemdestih letih prejšnjega stoletja pokazale, da z zdravstvenega vidika ni nobenega razloga, da se barvila, ki so dovoljena za uporabo v živilih, ne bi smela uporabljati tudi v zdravilih. To je, kot že prej omenjeno, določila tudi Direktiva 78/25/EGS in postavila zahteve glede čistosti barvil, ki jih je za uporabo v živilih odobrila Direktiva 62/2645/EGS (17). Med državami članicami so še naprej obstajale razlike v zakonih, ki zadevajo barvanje zdravil, kar je oteževalo promet z zdravili in trgovanje z zadevnimi barvili. Direktivo 78/25/EGS je zato nadomestila Direktiva Evropskega parlamenta in Sveta 2009/35/ES o barvilih, ki se lahko dodajajo zdravilom, in določila, da se lahko za barvanje zdravil uporabljajo le tista barvila, ki so dovoljena za uporabo v živilih in zajeta v Prilogi I k Direktivi 94/36/ES. Postavljene so bile tudi zahteve, da ta barvila izpolnjujejo splošne specifikacije za aluminijeve pigmente in ustrezajo merilom čistosti, ki jih določa Direktiva 95/45/ES (30).

V EU trenutno poteka program ponovne ocene varnosti aditivov s strani EFSA, ki so bili dovoljeni za uporabo pred 20. januarjem 2009, in bo predvidoma zaključen do konca leta 2020. Namen ponovne ocene je ovrednotenje toksičnosti predvsem sintetičnih barvil, kot so tartrazin, kinolinsko rumeno, oranžno FCF, azorubin, rdeče 4R, eritrozin, rdeče AC, modro V, indigotin, modro FCF, zeleno S, črno PN in rjavo HT (19).

1.2.4.2 Zakonodaja v Sloveniji

V Sloveniji veljata na področju barvil za uporabo v živilih Uredba 1333/2008/ES in Uredba o izvajanju uredbe o aditivih za živila (Uradni list RS, št. 12/2011) z vsemi spremembami (31). Za spremljanje uživanja in uporabe aditivov za živila za področje prehranskih dopolnil, živil za posebne prehranske oziroma zdravstvene namene in hrano v gostinstvu je pristojno Ministrstvo za zdravje (21, 32). Seznam EU za aditive, vzpostavljen z Uredbo 1129/2011/EU, se je začel uporabljati junija 2013 in se stalno spreminja (33). Za zagotavljanje varstva potrošnikov glede informacij o živilih so predpisane tudi zahteve za označevanje aditivov, in sicer v delu C Priloge Uredbe Evropskega parlamenta in Sveta 1169/2011/EU o zagotavljanju informacij o živilih potrošnikom (34). Po Pravilniku o splošnem označevanju predpakiranih živil (Uradni list RS, št. 36/2014) morajo biti aditivi označeni z imenom kategorije aditiva in specifičnim imenom aditiva ali E-številom, na primer »*barvilo titanov dioksid/E 171*«. Označbe morajo biti v slovenskem jeziku, na opaznem mestu embalaže, jasno čitljive, razumljive in neizbrisne (35).

Na področju barvil za uporabo v zdravilih se uporablja Pravilnik o barvilih, ki se smejo dodajati zdravilom (Uradni list RS, št. 86/2008), ki povzema določbe Direktive 78/25/EGS (36). Označevanje pomožnih snovi v zdravilih ureja Pravilnik o označevanju in navodilu za uporabo zdravil za uporabo v humani medicini (Uradni list RS, št. 57/2014). Po tem pravilniku je potrebno na ovojnini navajati sledeča azo barvila: tartrazin (E 102), kinolinsko rumeno (E 104), oranžno FCF (E 110), azorubin (E 122), amarant (E 123), rdeče 4R (E 124), rdeče AC (E 129) in črno PN (E 151). Slednja morajo biti navedena tudi v navodilu za uporabo skupaj z opozoriloma »*Lahko povzroči alergijske reakcije.*« in »*Lahko ima neželen vpliv na aktivnost in pozornost pri otrocih.*« (37)

1.2.4.3 Zakonodaja v ZDA

Nadzor nad barvili, ki se uporabljajo v živilih, zdravilih, kozmetičnih izdelkih in medicinskih pripomočkih, je v ZDA pod okriljem FDA ter se ureja po Kodeksu zveznih predpisov. FDA opravlja svoje aktivnosti v skladu z Zveznim zakonom o živilih, zdravilih in kozmetičnih izdelkih (Federal Food, Drug, and Cosmetic Act; v nadaljevanju FD&C zakon) in Zakonom pravičnega pakiranja in označevanja (Fair Packaging and Labeling Act) (38). FD&C zakon določa, da mora biti vsak aditiv, ki je namerno dodan živilu, odobren s strani FDA, razen če je snov med kvalificiranimi strokovnjaki splošno znana kot

varna pri namerni uporabi (generally recognized as safe; v nadaljevanju GRAS). Snov lahko pridobi oznako GRAS na podlagi znanstvenih dokazov o njeni varnosti ali na podlagi izkušenj pri splošni uporabi v živilih za snovi, uporabljene pred letom 1958 (39). Vsa ostala dovoljena barvila so razvrščena v dve skupini, in sicer v tista, ki so predmet certifikacijskega procesa s strani FDA, in tista, ki so le-tega oproščena. Certifikacijski proces je proces, v katerem serijo barvil testirajo na sestavo in čistost v laboratorijih, ki jih odobri FDA. Če barvilo ni certificirano s strani FDA, se ne sme uporabljati. Med barvila, potrebna certifikacije, spadajo sintetična organska barvila in laki, certifikacije pa so oproščena naravna rastlinska in mineralna barvila. FD&C zakon je barvila, ki potrebujejo certifikacijo, razdelil v tri kategorije, in sicer FD&C barvila, ki so certificirana za uporabo v živilih, zdravilih in kozmetičnih izdelkih, D&C barvila za uporabo v zdravilih in kozmetičnih izdelkih, ki lahko pridejo v stik s sluznico oziroma se zaužijejo, in zunanja D&C barvila za uporabo v izdelkih za zunanjo uporabo (18, 14, 38).

1.2.5 Poimenovanje barvil

Da ne bi prihajalo do zmede in nejasnosti zaradi velikega števila različnih odtenkov, se je razvilo več sistemov poimenovanja barvil. Za nas najpomembnejši sistem je evropski E-sistem označevanja barvil, ki ga je razvila Evropska gospodarska skupnost (EGS) z namenom usklajevanja in lažjega mednarodnega trgovanja z živili. Vsakemu aditivu je bilo dodeljeno pripadajoče število E, ki aditiv karakterizira in specificira. Označeni so s črko E in številom iz serije 100 – 199 (40). Sistem sledi mednarodnemu sistemu označevanja (International Numbering System; INS), ki ga je opredelil Codex Alimentarius (41). V ZDA je poimenovanje barvil določeno s FD&C zakonom, ki je tri različne kategorije barvil označil z oznakami FD&C, D&C in Ext. D&C. Oznaki se doda barvni odtenek in pripadajoče število, kot je razvidno tudi iz preglednice I (14, 42).

Preglednica I: Barvila, potrebna certifikacije, dovoljena za uporabo v živilih, zdravilih in kozmetičnih izdelkih (barvila FD&C) (42)

Barvilo	E-število	Splošno ime
FD&C modro št. 1	E 133	modro FCF
FD&C modro št. 2	E 132	indigotin
FD&C zeleno št. 3	-	-
oranžno B	-	-
citrusno rdeče št. 2	-	-
FD&C rdeče št. 3	E 127	eritrozín
FD&C rdeče št. 40	E 129	rdeče AC
FD&C rumeno št. 5	E 102	tartrazin
FD&C rumeno št. 6	E 110	oranžno FCF

Enega pomembnih načinov poimenovanja barvil predstavlja tudi klasifikacija Colour Index International (CI), ki sta ga objavila družba Society of Dyers and Colourists (SDC) in društvo American Association of Textile Chemists and Colorists (AATCC). Barvila so razvrščena po dvojni klasifikaciji, in sicer po generičnem imenu in identifikacijskem številu. Identifikacijsko število CI je pet mestno število, ki uvršča barvila v posamezne skupine glede na njihovo kemijsko strukturo. Azo barvila tako najdemo v območju 11000 – 39999, naravna barvila pa na primer med števili 75000 in 76999. Barvilo se poimenuje s predpono CI in generičnim imenom oziroma identifikacijskim številom (43).

1.2.6 Varnost barvil

Pozitivna lista barvil EU, ki so dovoljena za uporabo, temelji na oceni varnosti, tehnološki potrebi in zagotovitvi, da uporaba aditiva ne zavaja potrošnika. Barvilo je varno za uporabo, če dolgotrajno uživanje ne ogroža zdravja potrošnika. To zagotavljajo najvišje dovoljene vsebnosti barvil. Tehnološka potreba je upravičena, če določenega živila ni mogoče pripraviti brez uporabe te snovi. Do zavajanja potrošnika pa lahko pride, ko dodana barvila vzbudijo napačen vtis, da živilo vsebuje določene snovi, ki jih po objektivni presoji ne (44).

Z namenom zaščite zdravja potrošnikov je leta 1963 nastala zbirka mednarodno priznanih standardov in smernic, povezanih z živilo, pod imenom Codex Alimentarius (latinsko

»knjiga živil«). Za urejanje in razvijanje zbirke je odgovoren Odbor za živilske aditive in kontaminante Codex Alimentarius (Codex Committee on Food Additives and Contaminants; v nadaljevanju CCFAC), ki je nastal pod okriljem Svetovne zdravstvene organizacije (World Health Organization; v nadaljevanju WHO) in Organizacije Združenih narodov za prehrano in kmetijstvo (Food and Agriculture Organization of the United Nations; v nadaljevanju FAO). Priporočila odbora se uporabljajo pri odločitvah nacionalnih in mednarodnih organov, ki skrbijo za varnost živil (19, 45).

V EU je varnost barvil za uporabo v živilih ovrednotena s strani EFSA. Le-ta skrbi za neodvisno znanstveno svetovanje o vseh zadevah v zvezi z varnostjo živil, na podlagi katerega se pripravljajo zakonodajni in regulativni ukrepi, ki so potrebni za zagotavljanje varstva potrošnikov. Zakonodaja, sprejeta s strani Evropske komisije, je zavezujoča za vse članice EU. Drugi pomemben mednarodni strokovni odbor je Skupni strokovni odbor za živilske dodatke (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives; v nadaljevanju JECFA), ki sta ga ustanovila WHO in FAO. Na podlagi toksikološke ocene s strani EFSA in JECFA se določi največji sprejemljiv dnevni vnos (acceptable daily intake; v nadaljevanju ADI) barvila v mg/kg tt (telesne teže) ali pa se njegova uporaba ne priporoča (15, 46). ADI barvila pomeni količino barvila, ki bi jo smel človek vse življenje zaužiti vsak dan, ne da bi s tem ogrozil svoje zdravje. Temelji na vrednotenju toksikoloških podatkov, ki so na razpolago, in se določi na podlagi najvišjega odmerka, pri katerem ni opaznih neželenih učinkov (no observed adverse effect level; v nadaljevanju NOAEL) v mg/kg tt/dan v najbolj občutljivem izmed serij testov na živalih in nadaljnji ekstrapolaciji na človeka, tako da se vrednost NOAEL za poskusno žival deli z varnostnim faktorjem 100 (44, 47).

Glede na Direktivo 89/107/EGS je potrebno barvila kot tudi ostale aditive stalno nadzorovati ter jih po potrebi ponovno ovrednotiti glede na spremenjene pogoje uporabe in nova znanstvena dognanja. Namen toksikološkega testiranja je ugotoviti, ali bi barvilo ob predlaganem načinu in količini uporabe povzročilo večje tveganje za zdravje potrošnikov, predvsem za tiste skupine, ki so zaradi vzorcev prehranjevanja in fiziološkega ali zdravstvenega stanja bolj občutljive, npr. otroci, nosečnice, sladkorni bolniki itd. (48) V zadnjem času je prepoznaven trend uporabe naravnih barvil, kar je rezultat pritiskov potrošnikov in trgovcev na razvoj bolj naravnih izdelkov in nove zakonodaje, ki je omejila uporabo sintetičnih barvil v živilih. Vendar pa bo kljub težnji k naravnemu zmeraj obstajal

trg tudi za sintetična barvila, saj omogočajo večjo raznolikost barv, ki so privlačne človeškemu očesu (13).

1.2.6.1 Neželeni učinki uživanja barvil

Večina danes dovoljenih barvil za živila sodi v skupino vitaminov, provitaminov in naravnih snovi, kot so klorofil, karotenoidi, antocianini in barvilo rdeče pese. Vendar pa obstaja med dovoljenimi barvili vseeno še nekaj toksikološko spornih, kot so na primer azo barvila. Tveganja za neželene učinke barvil pri ranljivih ali občutljivih posameznikih ne morejo v celoti odpraviti niti določene vrednosti ADI. Največjo zaskrbljenost povzročajo predvsem sintetična barvila, ki jih povezujejo z najrazličnejšimi zdravstvenimi problemi, kot so vedenjske motnje, hiperaktivnost, alergijske reakcije in celo nastanek raka. Da bi prišlo do določenih fizioloških učinkov, se mora barvilo v gastrointestinalnem traktu absorbirati v krvni obtok, lahko pa pride tudi do metabolične bioaktivacije v reaktivne presnovke (19, 44).

Pomembno skrb vzbujajo barvila pri otrocih, saj so le-ti bolj dovzetni za zanimive barve in so zaradi velikosti telesa lahko bolj podvrženi določenim toksinom. V študiji Univerze v Southamptonu iz leta 2008 so objavili, da so nekatera barvila nevarna za zdravje otrok, saj lahko povzročijo hiperaktivnost in povečajo nevarnost motenj učenja. Šlo je za mešanice šestih sintetičnih barvil in konzervansa natrijevega benzoata, ki so jih povezali s hiperaktivnostjo pri otrocih starih 3 in 8 ali 9 let (49, 50). EFSA zaradi pomanjkljivih dokazov tega ni potrdila, je pa zmanjšala vrednost ADI za tri zadevna barvila, in sicer za kinolinsko rumeno (E 104), oranžno FCF (E 110) in rdeče 4R (E 124), ker naj bi bila izpostavljenost tem barvilom na podlagi novih podatkov večja kot prvotno ugotovljena (50). Nekatere študije povezujejo azo barvila tudi s pojavom občutljivostnih reakcij, kar je EFSA preučila in podala mnenje, da je malo verjetno, da bi uživanje barvil v količinah, ki so trenutno dovoljene, povzročilo resne neželene reakcije (51). FDA je glede southamptonske študije in zahteve Centra za znanost v javnem interesu (Center for Science in the Public Interest; CSPI), da prepove zadevna barvila za uporabo, zaključila, da povezava med izpostavljenostjo barvilom in hiperaktivnostjo pri otrocih v splošni populaciji ne obstaja. Verjetno pa je, da se pri otrocih z motnjo pomanjkanja pozornosti s hiperaktivnostjo stanje poslabša zaradi izpostavljenosti številnim snovem v hrani in ne samo sintetičnim barvilom (52).

2 NAMEN DELA

Vitaminski in mineralni pripravki so v zadnjem času preplavili prodajne police, zaradi današnjega tempa življenja pa se je povečala tudi njihova uporaba, saj nekaterim pripisujejo celo zdravilne lastnosti. Barvila predstavljajo pomembno sestavino, saj je njihov glavni namen pritegniti pozornost. Zaradi vse večjega zavedanja ljudi o škodljivosti nekaterih aditivov pa se poraja vprašanje, katera barvila se uporabljajo v takšnih pripravkih, še posebej v tistih, namenjenih otrokom, in ali so varna.

Namen magistrske naloge je oceniti varnost barvil v vitaminskih in mineralnih pripravkih na slovenskem trgu. Pri delu se bomo osredotočili tako na prehranska dopolnila kot na vitaminske in mineralne pripravke, ki so v Sloveniji registrirani kot zdravila brez recepta. Pregledali bomo veljavno zakonodajo na področju barvil za uporabo v prehranskih dopolnilih in zdravilih v Sloveniji, Evropi in ZDA ter strokovno literaturo, ki se nanaša na varnost njihove uporabe. Delo bo obsegalo tudi pregled vsebovanih barvil v naključno izbranih vitaminskih in mineralnih pripravkih, ki jih najdemo na policah lekarn, specializiranih prodajaln, drogerij in prodajaln z živili v Sloveniji. Po statistični obdelavi podatkov bomo izbrali tista barvila, ki so v pripravkih najpogostejše zastopana, ter s pomočjo literature prikazali njihov toksikološki profil. Predstavili bomo tudi barvila z največ možnimi neželenimi učinki in prikazali, v kolikšni meri se pojavljajo na trgu. Na podlagi zbranih podatkov bomo ocenili varnost barvil v pregledanih vitaminskih in mineralnih pripravkih.

Pri raziskovanju bomo preverili tudi naslednje hipoteze:

1. Večina vitaminskih in mineralnih pripravkov vsebuje barvila.
2. Barvila so v vitaminskih in mineralnih pripravkih prisotna večinoma v kombinaciji vsaj dveh različnih barvil.
3. Netopna anorganska barvila, ki povečajo stabilnost zdravilne učinkovine, se uporabljajo predvsem v vitaminskih in mineralnih pripravkih, ki so registrirani kot zdravila brez recepta.
4. Največ različnih barvil vsebujejo vitaminski in mineralni pripravki, namenjeni otrokom, da jih le-ti raje zaužijejo.

5. Vitaminski in mineralni pripravki, namenjeni otrokom, ne vsebujejo azo barvil.
6. Vitaminski in mineralni pripravki, registrirani kot zdravila brez recepta, vsebujejo bolj varna barvila kot prehranska dopolnila.
7. Vitaminski in mineralni pripravki vsebujejo pretežno barvila, ki niso možni alergeni.

3 MATERIALI IN METODE

3.1 IZBOR VITAMINSKIH IN MINERALNIH PRIPRAVKOV

Zanimali so nas vitaminski in mineralni pripravki, ki jih je mogoče kupiti v Sloveniji v prosti prodaji v lekarnah, specializiranih prodajalnah, drogerijah in prodajalnah z živili. Reprezentativnost vzorca smo skušali zagotoviti s pregledom čim večjega števila pripravkov, ki smo jih izbrali naključno in brez posebnega kriterija v različnih lekarnah in specializiranih prodajalnah po Sloveniji ter preko njihove spletne prodaje, v drogerijah Dm Drogerie Markt, Müller in Tuš drogerija ter prodajalnah z živili Spar, Mercator, Tuš, Hofer in Lidl. Na ta način smo pregledali 239 vitaminskih in mineralnih pripravkov, od katerih je bilo 227 prehranskih dopolnil in 12 pripravkov, registriranih v Sloveniji kot zdravila brez recepta.

3.2 NAČIN PRIDOBIVANJA PODATKOV

3.2.1 Vir podatkov

Podatke o uporabljenih barvilih smo pridobili s pomočjo podatkov o sestavinah na embalaži posameznih vitaminskih in mineralnih pripravkov, v navodilih za uporabo, v povzetkih temeljnih značilnosti zdravil (SmPC) ter podatkov o sestavinah pripravkov, objavljenih na spletnih straneh proizvajalcev, lekarn in specializiranih prodajaln.

3.2.2 Način določanja barvil

Barvila smo določili tako, da smo pregledali uporabljene sestavine v posameznem pripravku ter popisali, katera in koliko barvil vsebuje. Pri pregledu uporabljenih barvil smo se opirali na veljavno zakonodajo, predvsem na seznam EU za aditive, vzpostavljen z Uredbo 1129/2011/EU. Preverili smo tudi, ali so bila barvila na prehranskih dopolnilih označena v skladu s Pravilnikom o splošnem označevanju predpakiranih živil, zdravila brez recepta pa v skladu s Pravilnikom o označevanju in navodilu za uporabo zdravil za uporabo v humani medicini.

Primer obravnave posameznih izdelkov prikazujemo v preglednici II, vse pregledane izdelke z določenimi barvili in njihovim številom pa smo zbrali v Prilogah 3 – 6.

Preglednica II: Primer določitve barvil v vitaminskih in mineralnih pripravkih

Blagovna znamka / proizvajalec	Ime prehranskega dopolnila / zdravila	Splošno ime barvila	E-število barvila	Σ barvil
Das Gesunde PLUS	Multi-Mineral, šumeče tablete	riboflavin	E 101(i)	1
Jamieson	Vita-Vim za otroke, želejčki	korenčkov sok, anato	E 160a(i)*, E 160b*	2
Terranova	Vitamin B12, kapsule	-	-	0
Krka	Magnesol, šumeče tablete	oranžno FCF	E 110	1
Krka	Pikovit 4+, obložene tablete	titanov dioksid, rdeče 4R, oranžno FCF, kinolinsko rumeno, indigotin	E 171, E 124, E 110, E 104, E 132	5
Novartis	Ca-C Calvive, šumeče tablete	-	-	0

* E-število barvila v skladu z Uredbo 1129/2011/ES, ki ustreza naravnim barvilom, prisotnim v živilu

Glede označevanja barvil v prehranskih dopolnilih določa Pravilnik o splošnem označevanju predpakiranih živil navedbo kategorije aditiva in njegovega splošnega imena oziroma E-števila (35), zato smo se pri pregledu prehranskih dopolnil osredotočili na barvila, ki so bila označena v skladu s tem. V primeru, da je pripravek vseboval dodana posušena ali zgoščena živila in njihove ekstrakte, smo kot barvila upoštevali samo tista, ki so pred imenom imela navedeno kategorijo *barvilo*, nismo pa upoštevali tistih, katerih barvni učinek bi lahko bil drugotnega pomena ter so živilu dodana predvsem zaradi arome in okusa ali hranilnih lastnosti, kot to predvideva Direktiva 94/36/ES (25). Uporabljena barvila v obliki posušenih ali zgoščenih živil in njihovih ekstraktov smo glede na to, katera barvila vsebuje dodano živilo v večji meri, razvrstili med naravna barvila, ki jih ureja Uredba 1129/2011/EU. Na ta način smo dodan sok rdeče pese v prahu označili kot betanin (E 162), kurkumo kot kurkumin (E 100), korenčkov sok kot mešanico karotenov (E 160a(i)) in anato kot izvlečke anata (E 160b).

3.3 OCENA VARNOSTI BARVIL

Oceno varnosti barvil smo opredelili z oceno tveganja za pojav neželenih učinkov, ki bi lahko nastali pri vnosu barvil z vitaminskimi in mineralnimi pripravki. Z namenom ocene tveganja smo preverili označevanje opozoril pri uporabi določenih barvil, ki jih zahteva zakonodaja, določili število barvil za posamezni pripravek in preverili zastopanost posameznih barvil. Med seboj smo primerjali skupino prehranskih dopolnil in skupino zdravil brez recepta ter merila za oceno tveganja posebej preverili pri vitaminskih in mineralnih pripravkih, namenjenih otrokom. S pomočjo literature smo prikazali toksikološki profil najpogosteje zastopanih barvil in barvil z največ možnimi neželenimi učinki ter ocenili izpostavljenost posameznim barvilom.

3.3.1 Toksikološki profil

Podatke za predstavitev toksikološkega profila posameznih zastopanih barvil smo pridobili s pomočjo knjige *The Handbook of Pharmaceutical Excipients* (2009), objavljenih znanstvenih mnenj EFSA in FDA, spletne baze TOXNET, pomagali pa smo si tudi z objavljenimi znanstvenimi članki. Za posamezno barvilo smo zbrali podatke o vrednosti LD₅₀, vrednosti NOAEL in vrednosti ADI ter izsledke iz toksikoloških študij o možnih neželenih učinkih. Toksikološke parametre za obravnavana barvila smo primerjali med seboj in določili najbolj varna barvila ter opredelili tveganje, ki bi lahko nastalo ob uživanju vseh obravnavanih barvil.

Vrednost LD₅₀ barvila je količina barvila v mg/kg tt, ki povzroči smrt pri polovici (50 %) testirane populacije, in predstavlja merilo akutne toksičnosti, vrednost NOAEL pa nam pomaga oceniti toksičnost pri ponovljivih odmerkih. S primerjavo vrednosti LD₅₀ in NOAEL za posamezna barvila lahko le-ta primerjamo po toksičnosti, pri čemer je barvilo z višjimi vrednostmi manj toksično, torej bolj varno. Pomemben toksikološki parameter pri oceni varnosti barvil je tudi vrednost ADI, ki se za posamezno barvilo določi le, če obstajajo toksikološki podatki, da vnos barvila v količini, ki je potrebna za doseg tehnološkega učinka, ne predstavlja tveganja za zdravje ljudi. V primeru, da vrednost ADI za določeno barvilo ni določena, se smatra barvilo varno za uporabo. Višja vrednost ADI barvila tako pomeni višji dovoljeni vnos in manjšo toksičnost barvila (47). Zakonodaja ne

zahteva navedbe količine dodanega barvila, zato smo predvidevali, da v nobenem pripravku ni bila presežena vrednost ADI za vsebovana barvila.

3.3.2 Izpostavljenost barvilom

Izpostavljenost posameznim barvilom z uživanjem vitaminskih in mineralnih pripravkov smo določili na podlagi podatkov o vnosu določenih aditivov s hrano, ki jih je objavil Nacionalni inštitut za javno zdravje (v nadaljevanju NIJZ) za leto 2014. Ocena prehranskega vnosa posameznega aditiva se opravi z izračunavanjem teoretičnega največjega dnevnega vnosa (theoretical maximum daily intake; v nadaljevanju TMDI) na podlagi podatkov porabe živil v gospodinjstvu, tako da se predpostavi skrajno mejo vnosa. Referenčno mero za varnost predstavlja vrednost ADI, tako da so podatki glede predvidenega dnevnega vnosa pomembni predvsem pri tistih aditivih, ki imajo nizko vrednost ADI, ter pri aditivih, za katere se predvideva, da se uporabljajo v živilih v večji količini ali pa se takšna živila uživajo bolj pogosto oziroma v večjih količinah, predvsem pa, če jih uživa posebna, bolj občutljiva skupina ljudi, kot so na primer majhni otroci in starostniki (53).

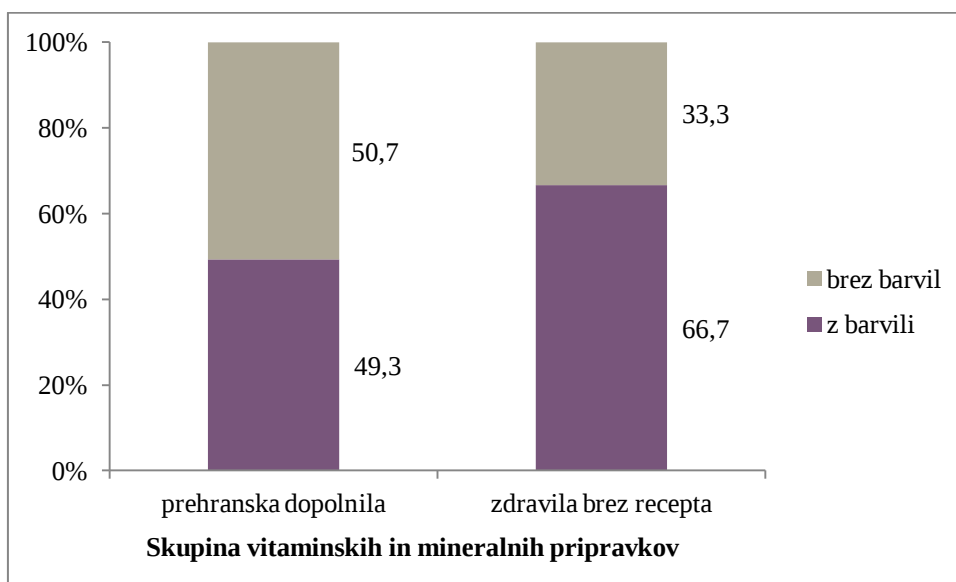
3.4 STATISTIČNA OBDELAVA

Zbrane podatke smo obdelali s pomočjo opisne in sklepne statistike. Pri tem smo si pomagali s programom Microsoft Office Excel 2007 in spletnim programom SISA ter rezultate predstavili tako tabelarično kot grafično. Za nezvezno spremenljivko število barvil v pripravkih smo določili frekvence pripravkov ter izračunali aritmetično sredino in standardni odklon. S pomočjo neparametričnega Fisherjevega natančnega testa smo nadalje preverili, ali obstajajo med skupino prehranskih dopolnil in skupino zdravil brez recepta statistično značilne razlike. Statistično značilne razlike pri 95 % intervalu zaupanja so vrednosti $p < 0,05$. Fisherjev natančni test se uporablja namesto χ^2 -testa za analizo dveh neodvisnih spremenljivk, kadar so vrednosti v celicah kontingenčne tabele manjše od 5. Za nominalno spremenljivko zastopanost posameznih barvil v pripravkih smo določili frekvence in deleže pripravkov glede na posamezno barvilo (54).

4 REZULTATI IN RAZPRAVA

4.1 PREGLED VITAMINSKIH IN MINERALNIH PRIPRAVKOV

Med pregledom 239 vitaminskih in mineralnih pripravkov v prosti prodaji na slovenskem trgu, od katerih je bilo 227 prehranskih dopolnil in 12 zdravil brez recepta, smo ugotovili, da je 120 pripravkov (50,2 %) vsebovalo vsaj eno barvilo, 119 pripravkov (49,8 %) pa je bilo brez barvil. Na začetku dela smo si zastavili hipotezo, da večina vitaminskih in mineralnih pripravkov vsebuje barvila, ki jo lahko na podlagi tega zavrnamo. V grafu 1 so prikazani deleži pripravkov z in brez barvil v skupini prehranskih dopolnil in skupini zdravil brez recepta. Vidimo, da je v skupini prehranskih dopolnil večji delež pripravkov brez barvil. V zadnjem času je opazen trend upada uporabe barvil zaradi večjega zavedanja ljudi o škodljivosti nekaterih aditivov. Pri pregledu izdelkov smo naleteli tudi na posamezne blagovne znamke, ki se nagibajo k čim manjši uporabi aditivov, kot so na primer Natural Wealth, Now, Solgar, Terranova. Na embalažah njihovih izdelkov lahko zasledimo navedbe, da izdelki ne vsebujejo sintetičnih barvil in arom, konzervansov ter so proizvedeni brez sestavin na osnovi možnih alergenov, kot so gluten, pšenica, mleko in soja.



Graf 1: Delež pripravkov z in brez barvil v skupini prehranskih dopolnil in skupini zdravil brez recepta

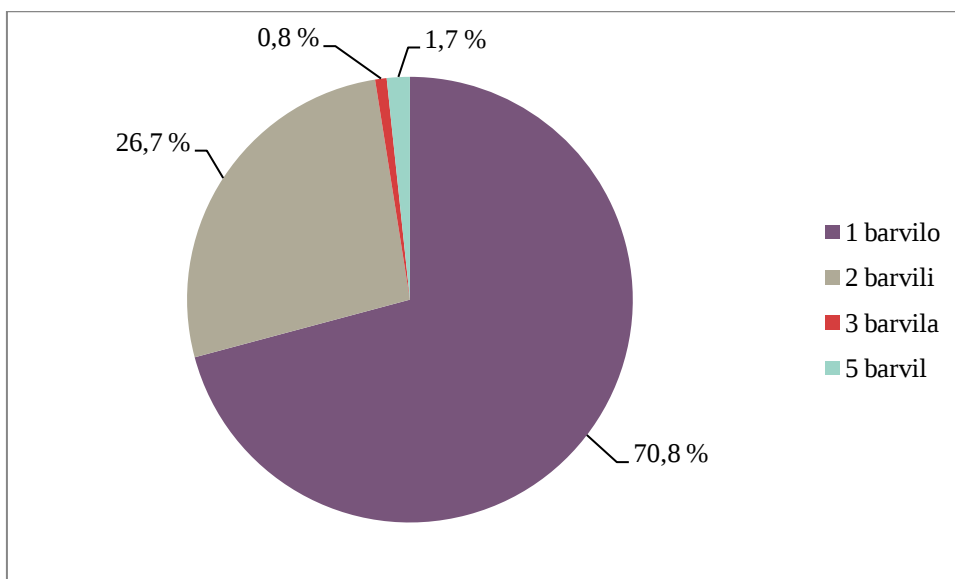
4.1.1 Označevanje barvil

Najprej smo preverili ali so vsebovana barvila označena v skladu z veljavno zakonodajo. V skupini prehranskih dopolnil so bila vsa barvila ustrezno označena z navedbo kategorije *barvilo* ter splošnim imenom in/ali E-številom, v skupini zdravil brez recepta pa z navedbo splošnega imena barvila in E-števila. Preverili smo tudi, ali imajo prehranska dopolnila, ki vsebujejo barvila oranžno FCF (E 110), kinolinsko rumeno (E 104), azorubin (E 122), rdeče AC (E 129), tartrazin (E 102) in rdeče 4R (E 124), v skladu z Uredbo 1333/2008/ES ob imenu ali E-številu barvila navedeno opozorilo *»Lahko škodljivo vpliva na aktivnost in pozornost otrok.«* Tak pripravek je bil samo eden, Ocuvive Lutein forte tablete, ki vsebujejo barvili oranžno FCF (E 110) in rdeče 4R (E 124), omenjeno opozorilo pa ni bilo navedeno niti na zunanji embalaži, niti v navodilu za uporabo. Podobno smo preverili ali imajo vitaminski in mineralni pripravki, registrirani kot zdravila brez recepta, na ovojnicah naveden seznam prisotnih poleg zgoraj omenjenih barvil še dve azo barvili amarant (E 123) in črno PN (E 151) ter opozorili *»Lahko povzroči alergijske reakcije.«* in *Lahko ima neželen vpliv na aktivnost in pozornost pri otrocih.«*, kot to zahteva Pravilnik o označevanju in navodilu za uporabo zdravil za uporabo v humani medicini (37). Takšnih pripravkov je bilo 5, od tega je le pripravek B-complex obložene tablete imel navedeni obe opozorili, medtem ko so v pripravkih CalciumvitaC šumeče tablete, Magnesol šumeče tablete, Pikovit 4+ obložene tablete in Pikovit sirup opozarjali le na možnost pojava alergijskih reakcij. Kljub temu, da so omenjeni štirje pripravki namenjeni tudi otrokom, in sicer CalciumvitaC starejšim od 7 let, Magnesol starejšim od 6 let, Pikovit 4+ starejšim od 4 let in Pikovit sirup od 1. leta naprej, opozorilo o škodljivem vplivu na aktivnost in pozornost otrok ni bilo navedeno, kar kaže na neupoštevanje zakonodaje in določeno tveganje pri uporabi omenjenih pripravkov.

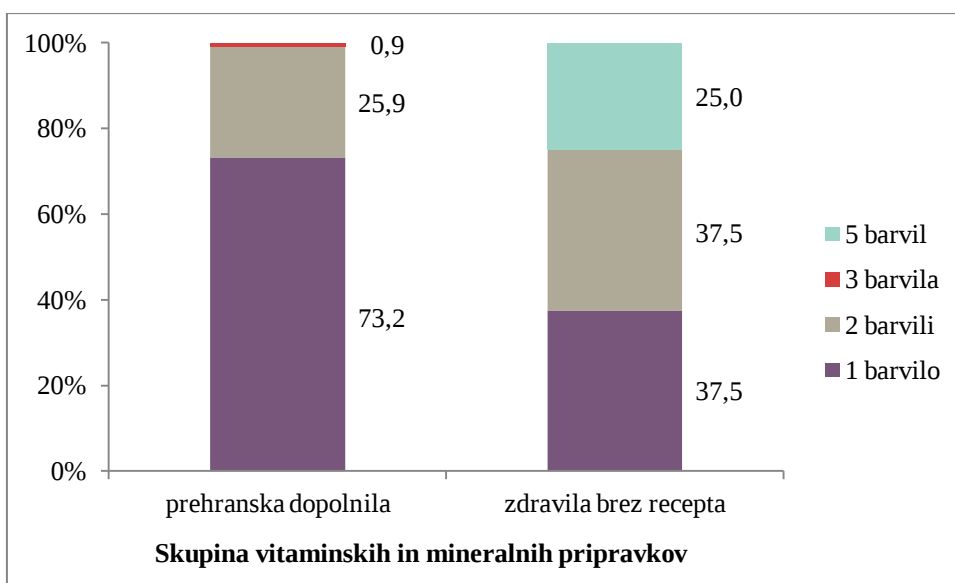
4.1.2 Število barvil v pripravkih

Zanimalo nas je koliko različnih barvil vsebuje posamezen vitaminski in/ali mineralni pripravek z barvili. Zastavili smo si hipotezo, da so barvila prisotna večinoma v kombinaciji vsaj dveh različnih barvil, ki pa jo lahko zavrnamo, saj je iz grafa 2 razvidno, da skoraj tri četrtine pregledanih pripravkov z barvili (70,8 %), vsebuje samo 1 barvilo, kombinacija 2 različnih barvil pa je prisotna v 26,7 % pripravkov z barvili. Samo 1

pripravek z barvili vsebuje 3 različna barvila, 2 pripravka z barvili pa kombinacijo celo 5 različnih barvil.



Graf 2: Delež pripravkov z barvili glede na število vsebovanih barvil



Graf 3: Delež pripravkov z barvili glede na število barvil v skupini prehranskih dopolnil in skupini zdravil brez recepta

V grafu 3 smo prikazali deleže vitaminskih in mineralnih pripravkov z barvili glede na število barvil v posameznem pripravku za skupino prehranskih dopolnil in skupino zdravil brez recepta. Vidimo, da v skupini prehranskih dopolnil z barvili prevladujejo pripravki, ki

vsebujejo samo 1 barvilo, medtem kot najdemo med zdravili brez recepta z barvili enako število pripravkov, ki vsebujejo 1 ali kombinacijo 2 barvil. Zanimivo je, da kar ena četrtna zdravil brez recepta z barvili vsebuje kombinacijo 5 različnih barvil.

Frekvenca vseh pregledanih vitaminskih in mineralnih pripravkov v skupini prehranskih dopolnil in skupini zdravil brez recepta glede na število barvil je predstavljena v preglednici III. S pomočjo spletnega programa SISA smo izvedli Fisherjev natančni test, ki je pokazal, da obstajajo statistično pomembne razlike v številu barvil med obema skupinama ($p = 0,0027$).

Preglednica III: Frekvenca vitaminskih in mineralnih pripravkov v skupini prehranskih dopolnil in skupini zdravil brez recepta glede na število barvil

Število barvil v pripravku	Prehranska dopolnila	Zdravila brez recepta
0	115	4
1	82	3
2	29	3
3	1	0
5	0	2

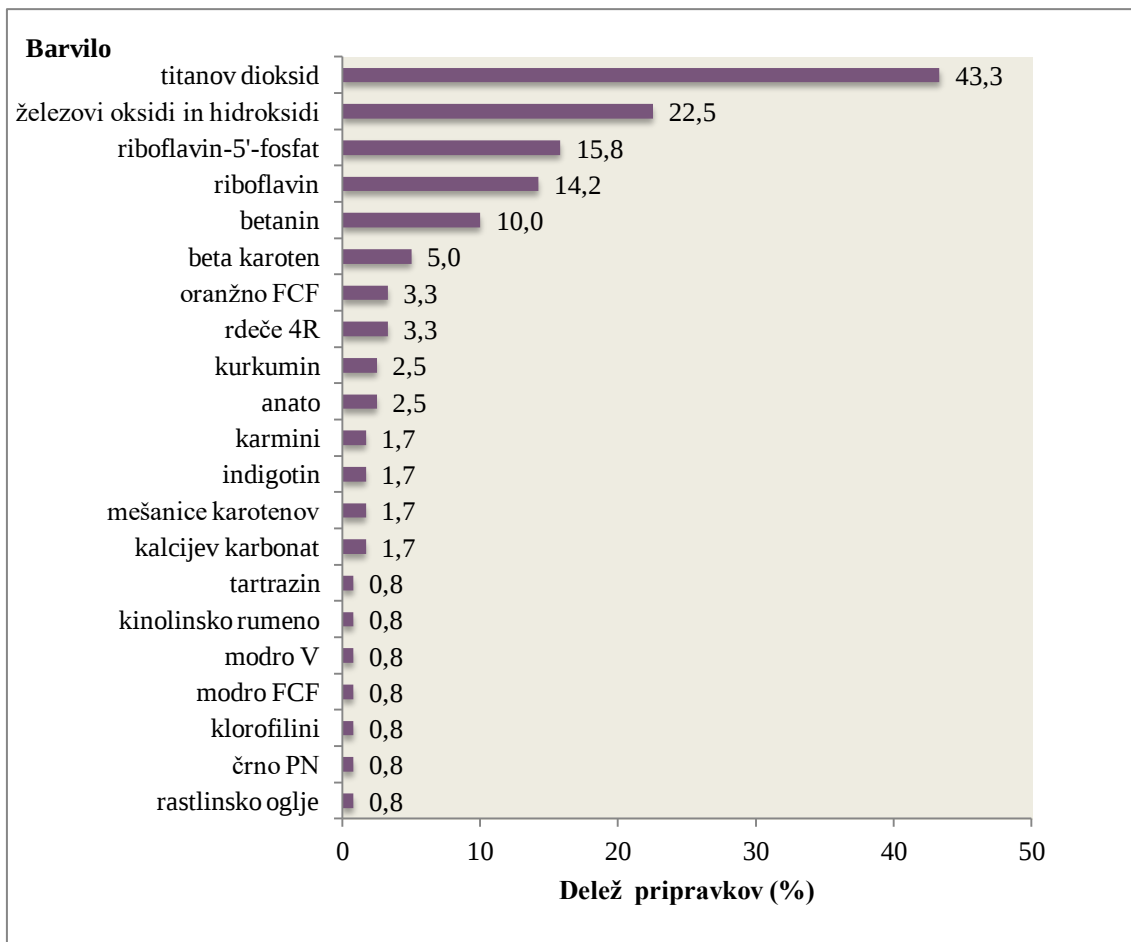
Izračunali smo aritmetično sredino in standardni odklon števila barvil za vse pregledane pripravke in rezultate prikazali v preglednici IV. Vidimo, da pripravki v skupini zdravil brez recepta vsebujejo povprečno več barvil kot prehranska dopolnila. Večje število različnih barvil v posameznem pripravku lahko kaže na večje tveganje za pojav neželenih učinkov.

Preglednica IV: Aritmetična sredina in standardni odklon števila barvil v vitaminskih in mineralnih pripravkih

Vitaminski in mineralni pripravki	Število enot	Aritmetična sredina in standardni odklon
vsi pripravki	239	$0,68 \pm 0,826$
prehranska dopolnila	227	$0,63 \pm 0,719$
zdravila brez recepta	12	$1,58 \pm 1,782$

4.1.3 Zastopanost posameznih barvil

Nadalje nas je zanimalo, katera barvila se v pregledanih pripravkih z barvili pojavljajo pogosteje od drugih. Rezultate smo predstavili v grafu 4.



Graf 4: Delež vitaminskih in mineralnih pripravkov z barvili glede na posamezno barvilo

Vidimo, da je najpogosteje uporabljeno barvilo titanov dioksid, ki smo ga zasledili v 52 od skupno 120 pripravkov z barvili (43,3 %), sledijo mu železovi oksidi in hidroksidi (22,5 %) ter riboflavin-5'-fosfat (15,8 %) in riboflavin (14,2 %). Barvila, ki so se pojavila samo enkrat, so nekatera azo barvila, kinolinsko rumeno, modro V, modro FCF, klorofilini in rastlinsko oglje. Frekvenca vitaminskih in mineralnih pripravkov z barvili in njihov delež glede na posamezno barvilo sta prikazana v Prilogi 7.

Preglednica V nam prikazuje kakšna je bila zastopanost posameznih barvil v prehranskih dopolnilih z barvili. Barvilo titanov dioksid je bilo uporabljeno v 48 od skupno 112

pripravkih (42,9 %), na drugem mestu so železovi oksidi in hidroksidi (22,3 %), sledita pa riboflavin-5'-fosfat in riboflavin. Azo barvila so bila uporabljena samo v 1 pripravku.

Preglednica V: Frekvenca vitaminskih in mineralnih pripravkov z barvili in njihov delež glede na posamezno barvilo v skupini prehranskih dopolnil

Splošno ime barvila	E-število barvila	Število pripravkov	Delež pripravkov (%)
titanov dioksid	E 171	48	42,9
železovi oksidi in hidroksidi	E 172	25	22,3
riboflavin-5'-fosfat	E 101(ii)	19	17,0
riboflavin	E 101(i)	17	15,1
betanin	E 162	12	10,7
beta karoten	E 160a(ii)	5	4,5
kurkumin	E 100	3	2,7
anato	E 160b	3	2,7
karmini	E 120	2	1,8
mešanice karotenov	E 160a(i)	2	1,8
indigotin	E 132	1	0,9
oranžno FCF	E 110	1	0,9
rdeče 4R	E 124	1	0,9
modro V	E 131	1	0,9
modro FCF	E 133	1	0,9
klorofilini	E 140(ii)	1	0,9
rastlinsko oglje	E 153	1	0,9

Zastopanost posameznih barvil je nekoliko drugačna pri vitaminskih in mineralnih pripravkih, ki so registrirani kot zdravila brez recepta. Iz preglednice VI je razvidno, da je polovica pripravkov z barvili vsebovala titanov dioksid, presenetljivo pa mu sledita azo barvila oranžno FCF in rdeče 4R, ki sta bili uporabljeni v kar 3 od 8 pripravkov (37,5 %).

Preglednica VI: Frekvenca vitaminskih in mineralnih pripravkov z barvili in njihov delež glede na posamezno barvilo v skupini zdravil brez recepta

Splošno ime barvila	E-število barvila	Število pripravkov	Delež pripravkov (%)
titanov dioksid	E 171	4	50,0
oranžno FCF	E 110	3	37,5
rdeče 4R	E 124	3	37,5
kalcijev karbonat	E 170	2	25,0
železovi oksidi in hidroksidi	E 172	2	25,0
tartrazin	E 102	1	12,5
kinolinsko rumeno	E 104	1	12,5
indigotin	E 132	1	12,5
črno PN	E 151	1	12,5
beta karoten	E 160a(ii)	1	12,5

Na začetku dela smo si zastavili hipotezo, da se netopna anorganska barvila, ki povečajo stabilnost zdravilne učinkovine, uporabljajo predvsem v vitaminskih in mineralnih pripravkih, ki so registrirani kot zdravila brez recepta. V prilogah 3 in 4 vidimo, da so bila omenjena barvila uporabljena v 58 pripravkih od skupno 112 prehranskih dopolnil z barvili (51,7 %) in v 5 pripravkih od skupno 8 zdravil brez recepta z barvili (62,5 %). Mineralna barvila so bila torej uporabljena v večjem deležu v zdravilih brez recepta kot v prehranskih dopolnilih. Na podlagi tega lahko zgornjo hipotezo potrdimo.

4.1.4 Barvila v vitaminskih in mineralnih pripravkih, namenjenih otrokom

V preglednicah VII in VIII smo zbrali vse pregledane pripravke, ki so namenjeni predvsem otrokom. V to skupino nismo vključili pripravkov, ki so namenjeni predvsem odraslim in jih lahko uživajo tudi otroci od določenega leta naprej. Od skupno 18 pripravkov je bilo 15 prehranskih dopolnil (83,3 %) in 3 pripravki, registrirani kot zdravila brez recepta (16,7 %). V skupini prehranskih dopolnil jih 9 ni vsebovalo barvil, medtem ko so vsi 3 pripravki v skupini zdravil brez recepta vsebovali vsaj eno barvilo.

Preglednica VII: Vitaminski in mineralni pripravki, namenjeni otrokom, iz skupine prehranskih dopolnil in vsebovana barvila

Blagovna znamka	Ime pripravka	Splošno ime barvila	E-število barvila	Σ barvil
Better You	DLux 400 vitamin D3 za dojenčke in otroke, ustno pršilo	-	-	0
Bimbi	Vitamix, sirup	-	-	0
Bimbi	Ferro C, sirup	-	-	0
Das Gesunde Plus	Vitamin D3 za otroke, žvečljive tablete	riboflavin	E 101(i)	1
Jamieson	Baby-D 400 IE, kapljice	-	-	0
Jamieson	Kalcij + D3, čokoladice	-	-	0
Jamieson	Vita-Vim za otroke, želejčki	korenčkov sok, anato	E 160a(i)*, E 160b*	2
Jamieson	Vita-Vim za otroke, bonboni	korenčkov sok, anato	E 160a(i)*, E 160b*	2
Jamieson	Vita-Vim za otroke z dodanim kalcijem in vitaminom C, bonboni	karmin	E 120	1
Jamieson	Vitamin D3 za otroke, bonboni	karmin	E 120	1
Medex	Multivitamin junior, sirup	-	-	0
Natural Wealth	ABC junior, žvečljive tablete	-	-	0
Supradyn	Junior, žvečljive tablete	rumeni železov oksid	E 172	1
Valens	Imunofit Junior, sirup	-	-	0
Walmark	Marsovci 1+, sirup	-	-	0

* E-število barvila v skladu z Uredbo 1129/2011/ES, ki ustreza naravnim barvilom, prisotnim v živilu

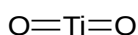
Preglednica VIII: Vitaminski in mineralni pripravki, namenjeni otrokom, iz skupine zdravil brez recepta in vsebovana barvila

Proizvajalec	Ime pripravka	Splošno ime barvila	E-število barvila	Σ barvil
Krka	Pikovit forte 7+, obložene tablete	titanov dioksid, beta karoten	E 171, E 160a(ii)	2
Krka	Pikovit 4+, obložene tablete	titanov dioksid, rdeče 4R, oranžno FCF, kinolinsko rumeno, indigotin	E 171, E 124, E110, E 104, E 132	5
Krka	Pikovit, sirup	rdeče 4R	E 124	1

Na začetku dela smo si zastavili hipotezo, da vitaminski in mineralni pripravki, namenjeni otrokom, vsebujejo največ različnih barvil, da jih le-ti raje zaužijejo. V preglednicah VII in VIII vidimo, da polovica pripravkov ne vsebuje barvil, 5 pripravkov ima po eno barvilo (27,8 %), 3 pripravki imajo kombinacijo dveh barvil (16,7 %) in 1 pripravek ima kombinacijo 5 različnih barvil (5,6 %). Povprečno število barvil na pripravek tako znaša 0,89, medtem ko pripravki, namenjeni odraslim, vsebujejo povprečno 0,66 barvil na posamezen pripravek. Ker gre za zelo majhno razliko, zgornje hipoteze ne moremo potrditi. Nadalje smo predvidevali, da se azo barvila v pripravkih za otroke ne uporabljajo ter tako postavili hipotezo, da takšni pripravki ne vsebujejo azo barvil. Kot je razvidno iz preglednice IX, smo azo barvila našli v dveh pripravkih od skupno 18 (11,1 %) in to v skupini zdravil brez recepta. Postavljeno hipotezo lahko torej zavrnamo.

4.2 PREDSTAVITEV NAJPOGOSTEJE ZASTOPANIH BARVIL

4.2.1 Titanov dioksid



Slika 1: Strukturna formula titanovega oksida

Empirična formula: TiO_2

Titanov dioksid je zelo široko uporaben v kozmetični, plastični, papirni in tekstilni industriji, v manjši meri pa se uporablja tudi v živilih in farmacevtskih pripravkih. Gre za bel, amorfen, nehigroskopen prah, premera manj kot 1 μm , ki je brez vonja in okusa. V naravi obstaja v kristaliničnih oblikah rutil, anataz in brukit, od katerih sta komercialno pomembni le prvi dve. V farmacevtskih pripravkih se najbolj uporablja oblika anataz, čeprav je rutilna oblika termodinamsko bolj stabilna. Titanov dioksid izkazuje odlično stabilnost proti svetlobi, ker ima visok refrakcijski indeks in lahko vpliva na sipanje svetlobe. Obseg razpršene svetlobe se spreminja glede na velikost prašnih delcev. V farmacevtskih pripravkih se uporablja v filmskih oblogah tablet, želatinastih kapsulah ter dermalnih pripravkih in kozmetičnih izdelkih, predvsem v izdelkih za zaščito pred soncem, saj odbija UVA in UVB žarke. Deluje kot belilo in poveča motnost pripravka, lahko pa se za optimizacijo odtenka meša tudi z drugimi barvili (55, 56).

Titanov dioksid velja načeloma za biološko inertnega za ljudi in živali, zaskrbljenost glede posledic izpostavljenosti je vzbudila šele uporaba delcev nano velikosti, ki se je zelo razširila zaradi visoke stabilnosti, antimikrobnih in fotokatalitičnih lastnosti takšnih delcev. Fizikalno-kemijske lastnosti delcev so namreč odvisne od njihove velikosti, tako da so manjši delci z večjo površino tudi bolj reaktivni. To je lahko zaželeno, hkrati pa lahko poveča njihovo toksičnost, saj se kot taki lažje transportirajo skozi biološke membrane. Neželeni učinki nanodelcev titanovega dioksida naj bi bili v glavnem posledica poškodbe celic zaradi oksidativnega stresa, genotoksičnosti, vnetja ali imunskega odziva, obseg poškodbe pa močno odvisen od njihovih fizikalno-kemijskih lastnosti, ki so odgovorne za njihovo biološko razpoložljivost in reaktivnost (56, 57).

Glavne poti izpostavljenosti delcem titanovega dioksida pri ljudeh predstavljajo zaužitje preko hrane ali farmacevtskih pripravkov, absorpcija skozi kožo pri nanosu kozmetičnih izdelkov in izdelkov za zaščito pred soncem ter inhalacija delcev na delovnem mestu. Za naše delo je najbolj pomembna pot preko zaužitja barvila. Titanov dioksid je v EU dovoljen za uporabo v živilih in farmacevtskih pripravkih kot aditiv E 171, ki ga je potrebno navesti med sestavine oziroma pomožne snovi. Zakonodaja pa ne predvideva navedbe uporabljene količine in velikosti delcev. V ZDA ima titanov dioksid oznako GRAS in se mora uporabljati v skladu z dobro proizvodno prakso, to je v najnižji možni količini, ki še dosega želeni tehnološki učinek. Edina omejitev je, da količina ne sme presegati 1 % teže živila (21, 58).

Biokinetične študije so v glavnem pokazale, da se večina zaužitih delcev titanovega dioksida ne absorbira v krvni obtok, ampak izloči skozi gastrointestinalni trakt. Večina zaužitega titanovega dioksida naj bi bila tudi v velikostih, večjih od 100 nm, saj so nanodelci (< 100 nm) brezbarvni, za ugodne belilne učinke in povečanje motnosti pa so potrebne velikosti 200 – 400 nm. Obstaja veliko študij glede akumulacije delcev titanovega dioksida v telesnih organih, vendar je zaenkrat premalo zanesljivih dokazov o njihovi absorpciji, distribuciji in izločanju po oralnem vnosu, da bi naredili konkretne zaključke (56, 57).

Akutna toksičnost

Znanstveni odbor za kozmetične izdelke in neprehrambne proizvode, ki so namenjeni potrošnikom (Scientific Committee on Cosmetic Products and Non-Food Products intended for Consumers; v nadaljevanju SCCNFP) poroča o vrednosti $LD_{50} > 11000$

mg/kg tt pri podganah in > 10000 mg/kg tt pri miših. Subkronična študija na podganah in miših Nacionalnega inštituta za raka (National Cancer Institute; v nadaljevanju NCI) ni pokazala toksičnih sprememb (59).

Genotoksičnost

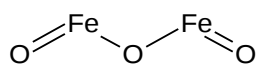
Testiranja na genotoksičnost so pokazala, da lahko nanodelci titanovega dioksida povzročijo genotoksične učinke preko oksidativnega stresa in vnetja. Dokazali so, da lahko ti delci preidejo v jedro celice in povzročijo cepitev DNA (56).

Kronična toksičnost in kancerogenost

Na podlagi študije na podganah in miših je NCI leta 1979 objavil, da dolgotrajni vnos titanovega dioksida pri podganah in miših ne povzroča raka. Mednarodna agencija za raziskovanje raka (International Agency for Research on Cancer; IARC) je leta 2010 uvrstila titanov dioksid v skupino 2B kot možno kancerogenega za ljudi. Študije na ljudeh niso podale zadostnih dokazov o kancerogenosti, medtem ko so študije na živalih potrdile povezavo med inhaliranim titanovim dioksidom in nastankom raka na pljučih (55, 60).

Trenutno obstaja premalo zanesljivih dokazov o toksičnosti delcev titanovega dioksida, tako nano kot mikro velikosti, da bi lahko podali končno oceno njegove varnosti pri peroralnem vnosu. Poleg tega zakonodaja, ki ureja področje vitaminskih in mineralnih pripravkov, zaenkrat še ne zahteva posebnega označevanja dodanih »nano aditivov«, kot je to potrebno pri kozmetičnih izdelkih. Najbolj skrb vzbujajoča izpostavljenost tako ostaja vdihovanje delcev titanovega dioksida.

4.2.2 Železovi oksidi in hidroksidi



Slika 2: Strukturna formula rdečega železovega oksida

Empirična formula:

- rdeči železov oksid: Fe_2O_3
- rumeni železov oksid (monohidrat, hidrat): $\text{Fe}_2\text{O}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$
- črni železov oksid: $\text{FeO} \cdot \text{Fe}_2\text{O}_3$

Železovi oksidi so lahko rdeče, rumeno in črno obarvani. Barva je odvisna od velikosti in oblike delcev ter njihove kristalinične strukture. Sposobni so absorbirati UV žarke in so široko uporabni kot barvila v kozmetičnih izdelkih, živilih in farmacevtskih pripravkih. So stabilni napram toploti, zato se jih lahko uporablja pri proizvodnji z visokimi temperaturami. Izkazujejo tudi dobro stabilnost na svetlobi in so netopni v večini topil. Nudijo dokaj ozek razpon odtenkov in so manj uporabni zaradi abrazivnosti. V živilih in farmacevtskih pripravkih se uporabljajo kot aditiv E 172, ki vključuje rdeči, rumeni, črni ter rjavi železov oksid, ki je mešanica vseh treh. Vsak izmed njih ima drugačne fizikalne in kemijske lastnosti ter se lahko uporablja posamezno ali kot mešanica (20, 55).

V splošnem veljajo železovi oksidi za pomožne snovi, ki niso toksične in ne dražijo (20). V EU je dovoljena uporaba železovih oksidov in hidroksidov po potrebi (*quantum satis*), torej najvišja dovoljena vsebnost količinsko ni določena za vsa živila, z izjemo celega svežega sadja in zelenjave (6 mg/kg) (61). Podobno velja v ZDA, kjer imajo železovi oksidi in hidroksidi oznako GRAS (42). Po CCFAC se lahko prav tako dodajajo živilom v skladu z dobro proizvodno prakso. JECFA je leta 1980 določila vrednost ADI, ki znaša 0 – 0,5 mg/kg in nato leta 2000 na podlagi podatkov o povprečnih dnevni vnosih železovih oksidov kot barvil zaključila, da je malo verjetno, da bi tak vnos presegel vrednost ADI (55, 62). V EU vrednost ADI za železove okside in hidrokside trenutno ni določena (47).

Akutna toksičnost

Železovi oksidi in hidroksidi imajo zelo majhno toksičnost, vrednost LD₅₀ pri podganah presega 10 g/kg tt (63).

Genotoksičnost in kancerogenost

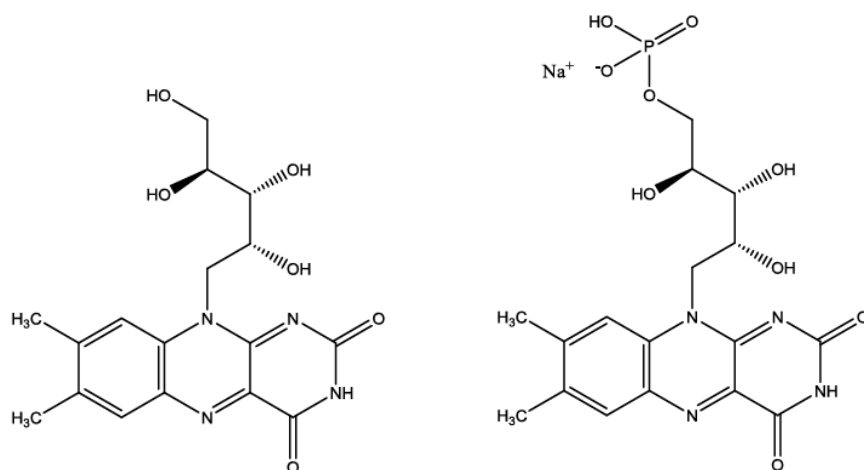
Nordijski svet ministrov (Nordic Council of Ministers; NCM) je leta 2000 objavil, da ni na voljo nobenih študij, ki bi raziskovale kronično toksičnost in kancerogenost železovih oksidov in hidroksidov pri peroralnem vnosu, podatki o genotoksičnosti pa niso dostopni. Na podlagi tega je zaključil, da ni razloga, da bi železovi oksidi in hidroksidi kot barvilo povzročili kakršne koli neželene učinke (64).

Leta 2012 je Kumari s sodelavci dokazal, da nanodelci rdečega oksida izkazujejo večjo toksičnost kot delci mikro velikosti. Na podlagi te študije je Svet za aditive za živila in hranilne vire, dodane živilom (Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food; v nadaljevanju ANS) pri ponovnem ovrednotenju barvila leta 2015 za mikodelce

rdečega železovega oksida določil NOAEL vrednost 1000 mg/kg tt/dan. Na podlagi največjega testiranega odmerka pri subkronični toksikološki študiji na podganah je ANS določil enako NOAEL vrednost za nanodelce rdečega železovega oksida. Nadalje je ANS kljub dokazanim genotoksičnim učinkom *in vitro* rdečega in črnega železovega oksida, tako nano kot mikro velikosti, zaključil, da genotoksičnost barvila na podlagi podatkov, ki so na voljo, ne more biti ovrednotena. Dolgoročne toksikološke študije in študije kancerogenosti niso pokazale pomembnih neželenih učinkov (63).

Glede na to, da imajo posamezni železovi oksidi in hidroksidi drugačne fizikalne in kemijske lastnosti, je ANS priporočal različno označevanje, na primer dodatek črk a, b in c k E-številu 172. Prav tako naj bi se zaradi možnih toksičnih učinkov nanodelcev v specifikacije za železove okside in hidrokside vključili velikost delcev in porazdelitev velikosti delcev (63).

4.2.3 Riboflavin in riboflavin-5'-fosfat



Slika 3: Strukturni formuli riboflavina (levo) in riboflavin-5'-fosfata (desno)

Empirična formula:

- riboflavin: $C_{17}H_{20}N_4O_6$
- riboflavin-5'-fosfat: $C_{17}H_{21}N_4O_9P$

Riboflavin je rumeno oranžen kristalinični prah z rahlim vonjem. V vodi je slabo topen, praktično netopen v alkoholu, kloroformu, acetonu in etru ter dobro topen v razredčenih alkalnih raztopinah. Barvilo riboflavin-5'-fosfat obstaja v obliki natrijeve soli kot rumeno

oranžen kristalinični prah z rahlim vonjem, ki je higroskopen. Topen je v vodi in netopen v etanolu. Riboflavin je za razliko od riboflavin-5'-fosfata dokaj stabilen proti toploti, oba sta pa občutljiva na svetlobo. Riboflavin se lahko pridobiva s kemijsko sintezo ali s fermentacijskim postopkom s pomočjo mikroorganizmov. Riboflavin-5'-fosfat nastane s fosforilacijo riboflavina s fosforjevim oksikloridom (POCl_3) (65).

Po zaužitju se riboflavin-5'-fosfat v sluznici gastrointestinalnega trakta hitro defosforilizira do riboflavina. Oba se uporabljata kot vir vitamina B2 pri dodajanju vitaminov k živilom in prehranskim dopolnilom. Nacionalni inštitut za javno zdravje (NIJZ) je leta 2013 objavil referenčne vrednosti za vnos vitaminov in mineralov, ki se gibljejo od 0,7 do 1,3 mg/dan za deklice, 0,7 – 1,6 mg/dan za dečke, 1,2 mg/dan za ženske in 1,3 – 1,5 mg/dan za moške. Riboflavin in riboflavin-5'-fosfat se v EU lahko uporabljata v živilih in farmacevtskih pripravkih kot barvila E 101(i) in E 101(ii), in sicer po potrebi (*quantum satis*) za vsa živila, z izjemo aromatiziranih proizvodov na osnovi vina, kjer je 100 mg/L najvišja dovoljena vsebnost (21, 65, 66).

SCF je podal mnenje, da se količina uporabljenega riboflavin-5'-fosfata naj ne bi bistveno razlikovala od uporabljene količine riboflavina. Leta 2000 je tudi zaključil, da je na podlagi obstoječih dokazov nemogoče določiti najvišjo dovoljeno dnevno količino za riboflavin, ki se uporablja kot vitamin, saj naj ti ne bi bili dovolj zanesljivi, vendar naj trenutne količine vnosa vseeno ne bi predstavljale tveganje za zdravje človeka. Po zaužitju 5 – 20 mg riboflavina bi se ga naj absorbiralo 30 – 50 %, absorpcija je največja, če se ga vzame skupaj s hrano (65).

Riboflavinu in riboflavin-5'-fosfatu ljudje niso izpostavljeni le s prehrano, zato je težko določiti ali bi možen visok vnos iz vseh virov (aditivi, prehranska dopolnila, prehrana) lahko povzročil neželene učinke. Vseeno pa naj trenutne količine vnosa ne bi predstavljale tveganje za zdravje človeka. Obstaja tudi več študij na otrocih, mladostnikih in odraslih, vključno z nosečnicami, o možnih koristnih učinkih dopolnjevanja riboflavina v primeru pomanjkanja vitamina B2 in uporabe riboflavina v profilaksi migrene (65).

Akutna in subkronična toksičnost

Akutna toksičnost riboflavinov je majhna. EFSA poroča o vrednostih LD_{50} riboflavina in riboflavin-5'-fosfata, večjih od 40000 mg/kg tt pri miših in > 20000 mg/kg tt pri podganah (65).

Na podlagi subkronične toksikološke študije na podganah je Buser skupaj s sodelavci leta 1995 določil NOAEL vrednost za riboflavin, proizveden s kemijsko sintezo in fermentacijo, ki znaša 200 mg/kg tt/dan. Neželenih učinkov pri najvišjih testiranih odmerkih riboflavina prav tako niso našli Bachman s sodelavci leta 2005 ter določili NOAEL vrednost 160,2 mg/kg tt/dan. S temi vrednostmi se je strinjal tudi ANS (65).

Genotoksičnost in kancerogenost

Na podlagi rezultatov dostopnih genotoksikoloških študij *in vitro*, je ANS zaključil, da riboflavina nista genotoksična. Kroničnih toksikoloških in študij na kancerogenost ni na voljo, študije reproduktivne in razvojne toksičnosti pa niso pokazale neželenih učinkov, zato je ANS podal mnenje, da ni primerno določiti ADI vrednosti (65).

Preobčutljivost in intoleranca

Na podlagi študij preobčutljivosti sta Liang-Shiou in Masuda s sodelavci leta 2001 in 2009 poročala, da lahko pride po zaužitju multivitaminskih pripravkov, brezalkoholnih pijač ali energetskih napitkov, ki vsebujejo riboflavin, do anafilaktične reakcije pri določenih posameznikih. Zaradi redkosti takšnih reakcij je ANS zaključil, da alergenost in imunotoksičnost ne predstavljata nevarnosti pri uporabi riboflavinov kot aditivov v živilih (65).

4.3 BARVILA Z MOŽNIMI NEŽELENIMI UČINKI

4.3.1 Azo barvila

Azo barvila vsebujejo azo skupino ($-N=N-$), konjugirano z dvema enakima ali različnima mono- ali policikličnima aromatskima sistemoma. Omogočajo intenzivno obarvanje v razponu od rumene in oranžne do rdeče ter izkazujejo zanimive biološke aktivnosti, kot so antibiotično, antifungicidno in delovanje proti virusu HIV. Po drugi strani pa jih povezujejo s hiperaktivnostjo pri otrocih, pojavom preobčutljivostnih reakcij in nastankom raka (67).

V EU so za uporabo v živilih in farmacevtskih pripravkih dovoljena naslednja azo barvila: tartrazin (E 102), oranžno FCF (E 110), azorubin (E 122), amarant (E 123), rdeče 4R (E 124), rdeče AC (E 129), črno PN (E 151) in rjavo HT (E 155). Kot smo omenili že prej, so pri uporabi teh barvil v živilih obvezna opozorila glede možnosti vpliva na aktivnost in

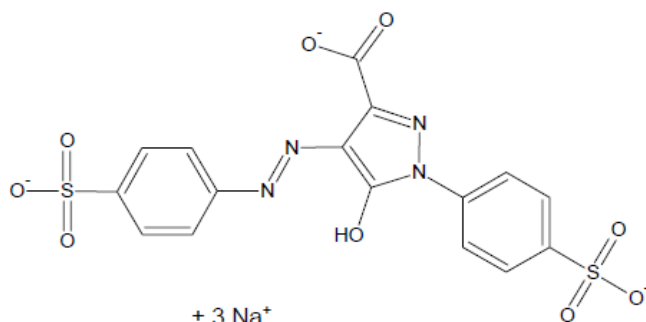
pozornost otrok, pri zdravilih pa še dodatno opozorilo o možnosti pojava alergijskih reakcij. Zanimivo je, da so v ZDA nekatera zgoraj naštetá barvila prepovedana za kakršno koli uporabo, in sicer so to azorubin, amarant, rdeče 4R, črno PN in rjavo HT. Za uporabo v živilih, zdravilih in kozmetičnih izdelkih so dovoljeni tartrazin (FD&C rumeno št. 5), oranžno FCF (FD&C sončno rumeno št. 6) in rdeče AC (FD&C rdeče št. 40). Za zelo omejeno uporabo sta dovoljeni tudi dodatni dve azo barvili, ki nista dovoljeni za uporabo v EU, to sta citrusno rdeče št. 2 in oranžno B. Citrusno rdeče št. 2 se lahko uporablja samo za barvanje lupine pomaranč, oranžno B pa v ovitkih hrenovk in klobas. Lista dovoljenih D&C barvil, torej tistih, ki so dovoljena le za uporabo v zdravilih in kozmetičnih izdelkih, ne pa tudi v živilih, zajema več barvil, med katerimi je še nekaj azo barvil, ki v EU niso dovoljena za uporabo. To so D&C oranžno št. 4, D&C rdeče št. 4, 6, 7, 17, 31, 33, 34, 36 in 39 ter D&C rjavo št. 1 (21, 42, 52, 58).

Možno kancerogeno delovanje azo barvil je posledica redukcije azo skupine z encimom azoreduktaza, ki se nahaja v črevesnih bakterijah in jetrih, pri kateri pride do nastanka kancerogenih aromatskih aminov. V splošnem naj bi bila toksičnost azo barvil nizka, saj se slabo absorbirajo in večina se ne metabolizira, kljub temu pa je potrebno opraviti še dodatne toksikološke študije (19, 67). Leta 2007 je EFSA umaknila s trga EU barvilo rdeče 2G (E 128) zaradi kancerogenosti in možnega škodljivega vpliva na genetski material človeških celic (48).

Veliko pozornosti je pritegnila že prej omenjena southamptonska študija iz leta 2008, ki povezuje uživanje nekaterih sintetičnih barvil (tartrazin, kinolinsko rumeno, oranžno FCF, azorubin, rdeče 4R, rdeče AC) in konzervansa natrijevega benzoata s pojavom hiperaktivnosti pri otrocih. Znanstveni odbor o aditivih za živila, aromah, pomožnih tehnoloških sredstvih in materialih za stik z živilom (Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Materials in Contact with Food; AFC) je leta 2008 podal mnenje, da obstaja majhen vpliv barvil na izbrane posameznike, ki pa niso predstavniki vseh starostnih skupin otrok, poleg tega so bila barvila uporabljena v mešanici in je nemogoče potrditi povezavo s pojavom vedenjskih motenj za posamezno barvilo. ANS se je strinjal, da dokazi niso zadostni za znižanje vrednosti ADI zadevnih barvil (51, 68).

Poblíže bomo predstavili toksikološki profil tistih azo barvil, ki smo jih zasledili v pregledanih izdelkih, to so tartrazin, oranžno FCF, rdeče 4R in črno PN.

4.3.1.1 Tartrazin



Slika 4: Strukturna formula tartrazina

Empirična formula: C₁₆H₉N₄Na₃O₉S₂

Absorpcija tartrazina je zanemarljiva do majhna (< 5 %), le-ta se pretežno izloči nespremenjen z urinom. V gastrointestinalnem traktu se v velikem obsegu metabolizira do presnovkov, ki se zlahka absorbirajo. Barvilo se lahko uporablja v živilih in farmacevtskih pripravkih v EU kot aditiv E 102, v ZDA pa kot barvilo FD&C rumeno št. 5. V EU Uredba 1129/2011/ES predpisuje najvišje dovoljene vsebnosti tartrazina za posamezno kategorijo živil, medtem ko se lahko barvilo v ZDA uporablja v skladu z dobro proizvodno prakso. Tartrazin sta obravnavala leta 1975 SCF in leta 1984 JECFA in določila vrednost ADI 7,5 mg/kg tt/dan na podlagi določene vrednosti NOAEL iz dolgoročne študije (750 mg/kg). Podobno je zaključil ANS pri ponovnem ovrednotenju barvila leta 2009 ter ocenil, da je pri maksimalni izpostavljenosti vnos tartrazina pod to vrednostjo (21, 58, 69).

Akutna in subkronična toksičnost

Na podlagi največjega testiranega odmerka na podganah je Sasaki s sodelavci leta 2002 določil vrednost LD₅₀ > 2000 mg/kg tt. ANS poroča tudi o vrednostih 12750 mg/kg tt, določenih leta 1964 pri miših.

Aboel-Zahab je leta 1997 s sodelavci poročal o določenih spremembah (zvišanje vrednosti skupnih lipidov, proteinov, transaminaz, znižanje koncentracije hemoglobina) v krvi podgan, ki so 30 in 60 dni prejemale mešanico sintetičnih barvil, ki je vključevala tartrazin. Ker pa je bilo barvilo v mešanici z drugimi barvili, je ANS zaključil, da študija ne daje zanesljivih rezultatov za znižanje vrednosti ADI (69).

Genotoksičnost

Sasaki je leta 2002 s sodelavci na podlagi testiranja oralnega vnosa 39 sintetičnih aditivov, med njimi tudi tartrazina, dokazal prisotnost poškodb DNA na želodcu, črevesju in mehurju pri miših. Poul je leta 2009 s sodelavci komentiral, da se te prehodne poškodbe ne morejo popraviti v stabilnih genotoksičnih lezijah, kar naj bi bila posledica lokalne citotoksičnosti barvila. ANS je na podlagi večih pregledanih študij zaključil, da zaenkrat ni dovolj zanesljivih dokazov o genotoksičnih učinkih tartrazina (69).

Kronična toksičnost in kancerogenost

Leta 1988 sta Borzelleca and Hallagan na podlagi kronične toksikološke študije določila vrednost NOAEL, ki znaša 2641 mg tartrazina/kg tt/dan za podganje samce in 3348 mg/kg tt/dan za podganje samice. Pri testiranih živalih je prišlo do rahlega rumenega obarvanja krzna in fecesa, opaznih kancerogenih sprememb pa niso našli. ANS se je strinjal z določeno vrednostjo NOAEL in na podlagi vseh pregledanih študij zaključil, da vnos tartrazina ne poveča verjetnost nastanka raka (69).

Preobčutljivost in intoleranca

Opravljenih je bilo nekaj študij občutljivosti, na podlagi katerih je ANS zaključil, da lahko po vnosu tartrazina pride do intolerančne reakcije v manjšem delu izpostavljene populacije, občutljivi posamezniki pa bi lahko reagirali tudi pri količinah, ki so pod vrednostjo ADI. Te reakcije vključujejo urtikarijo, angioedem, piskanje v pljučih in levkoklastični vaskulitis. Barvilo povezujejo tudi z alergijskimi reakcijami pri astmatikih in ljudeh, ki so občutljivi na acetilsalicilno kislino (69).

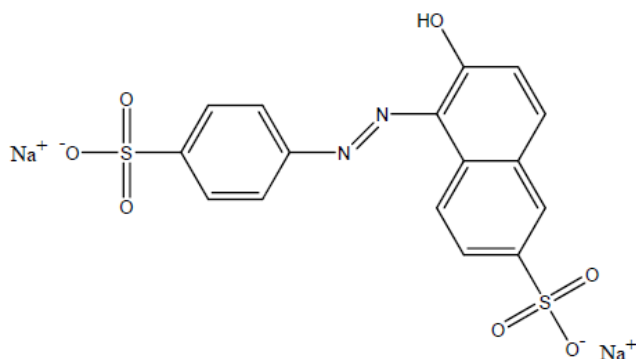
Nevrotoksičnost

Gao je leta 2011 poročal, da 30 dnevni vnos tartrazina v odmerku 125 – 500 mg/kg tt povzroči nevrotoksičnost ter motnje učenja in spomina tako pri miših kot podganah, ki so odvisne od odmerka. Vzrok naj bi bil v lipidni peroksidaciji in tvorbi reaktivnih kisikovih spojin ter inhibiciji endogenih antioksidativnih encimov (70).

Estrogenska aktivnost

Axon je leta 2012 s sodelavci dokazal, da lahko tartrazin in oranžno FCF delujeta kot aktivatorja estrogenskih receptorjev, torej kot ksenoestrogena. Ker lahko estrogen deluje holestatično, bi lahko kronično uživanje obeh barvil vodilo do primarne biliarne ciroze pri ženskah po menopavzi (71).

4.3.1.2 Oranžno FCF (E 110)



Slika 5: Strukturna formula oranžnega FCF

Empirična formula: $C_{16}H_{10}N_2Na_2O_7S_2$

Oranžno FCF se iz gastrointestinalnega trakta absorbira le v manjši meri, večina se ga izloči s fecesom. Po vsej verjetnosti podleže tudi redukciji azo skupine, kar lahko vodi do nastanka aromatskih aminov. Barvilo se lahko uporablja v živilih in farmacevtskih pripravkih v EU kot aditiv E 110, v ZDA pa kot barvilo FD&C rumeno št. 6. Podobno kot pri tartrazinu predpisuje v EU Uredba 1129/2011/ES najvišje dovoljene vsebnosti barvila za posamezno kategorijo živil, v ZDA pa se lahko le-to uporablja v skladu z dobro proizvodno prakso. Oranžno FCF sta obravnavala JECFA 1982 in SCF leta 1984 in določila vrednost ADI, ki znaša 0 – 2,5 mg/kg tt/dan. V letu 2009 je EFSA ponovno ovrednotila varnost uporabe barvila in določila začasno vrednost ADI 1 mg/kg tt/dan za 2 leti ter priporočila, da je potrebno opraviti nadaljnja testiranja. Na podlagi novih podatkov s strani JECFA in določene vrednosti NOAEL iz dolgoročne študije (375 mg/kg tt/dan) je ANS leta 2014 zvišal vrednost ADI na 4 mg/kg tt/dan ter zaključil, da je izpostavljenost barvilu za vse starostne skupine pod to vrednostjo (21, 58, 72).

Akutna in subkronična toksičnost

Gaunt je leta 1967 določil vrednost $LD_{50} > 6000$ mg/kg tt pri miših in > 10000 mg/kg tt pri podganah. V enostavnem testu akutne toksičnosti na 4 – 5 miših pa je leta 2002 Sasaki določil vrednost $LD_{50} > 2000$ mg/kg tt. Opravljenih je bilo več subkroničnih študij, pri katerih je bilo oranžno FCF uporabljeno v kombinacijah z drugimi barvili ali snovmi, na podlagi katerih je težko oceniti vpliv posamezne sestavine mešanice (72).

Genotoksičnost, kronična toksičnost in kancerogenost

Sasaki je s sodelavci v letu 2002 na podlagi že omenjenega testiranja sintetičnih aditivov poročal, da barvilo v odmerkih do 2000 mg/kg tt ne povzroča poškodb DNA. Podobno je ugotovil Poul s sodelavci v študiji iz leta 2009. Pred več desetletji je bilo opravljenih nekaj študij kancerogenosti, ki niso pokazale kancerogenega učinka barvila (72).

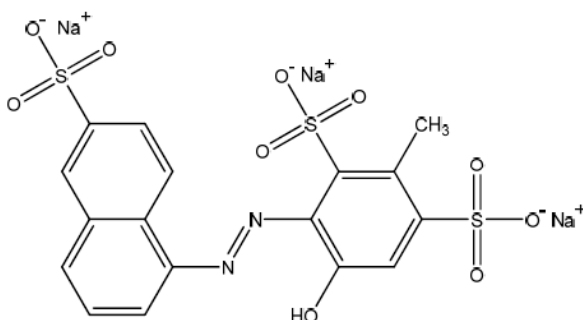
Preobčutljivost in intoleranca

ANS je leta 2009 zaključil, da obstaja zaenkrat premalo dokazov za povezavo barvila s pojavom preobčutljivostnih reakcij, saj je bila večina pozitivnih reakcij povezana z uporabo barvila v mešanicah z drugimi sintetičnimi barvili. Občutljivi posamezniki pa bi lahko reagirali tudi pri količinah pod vrednostjo ADI (72).

Estrogenska aktivnost

Oranžno FCF naj bi podobno kot tartrazin delovalo kot estrogenski aktivator, kot je to dokazal Axon s sodelavci leta 2012 (72).

4.3.1.3 Rdeče 4R (E 124)



Slika 6: Strukturna formula rdečega 4R

Empirična formula: $C_{20}H_{11}N_2Na_3O_{10}S_3$

Rdeče 4R se absorbira v krvni obtok le v manjši meri, okrog 90 % se ga izloči s fecesom, od tega 25 – 35 % nespremenjenega, preostali del pa kot produkti redukcije azo skupine. Barvilo sta obravnavala JECFA leta 1983 in SCF leta 1984 ter določila vrednost ADI, ki znaša 0 – 4 mg/kg tt/dan. Leta 2009 je barvilo ponovno ocenil ANS in vrednost ADI na osnovi vrednosti NOAEL (70 mg/kg tt/dan), določene z dolgotrajno študijo na miših, znižal na 0,7 mg/kg tt/dan. ANS je dodatno zaključil, da vnos pri maksimalni uporabi

barvila presega vrednost ADI tako pri odraslih kot otrocih. Posledično so se spremenile najvišje dovoljene vsebnosti barvila (mg/L ali mg/kg) v Prilogi II k Uredbi 1333/2008/ES, mnoge so bile umaknjene ali znižane za faktor 1,2 do 200. Leta 2014 je bila ponovno ocenjena izpostavljenost barvilu s strani EFSA, ki je zaključila, da le-ta pri vseh skupinah populacije trenutno ne presega vrednosti ADI (73).

Akutna in subkronična toksičnost

Akutna oralna toksičnost barvila je majhna. Leta 1967 je Gaunt s sodelavci določil vrednost LD₅₀ 8000 mg/kg tt pri miših in > 8000 mg/kg tt pri podganah. Sasaki je leta 2012 s sodelavci poročal o vrednosti LD₅₀ > 2000 mg/kg tt.

V Gauntovi študiji na podganah je prišlo pri vnosu 1000 mg barvila/kg tt/dan do zvišanja vrednosti transaminaz in znižanja koncentracije hemoglobina in teže jeter, ostalih neželenih učinkov niso opazili (73).

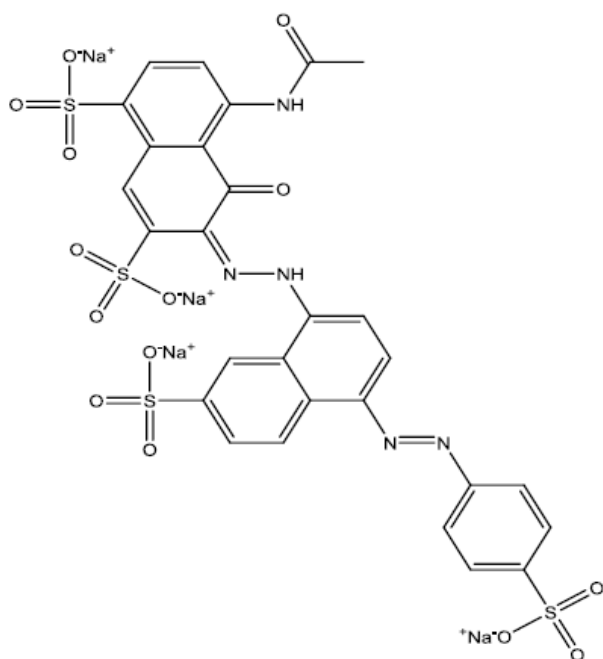
Genotoksičnost, kronična toksičnost in kancerogenost

In vitro genotoksikološke študije niso dale pozitivnih rezultatov. Leta 2001 je Tsuda s sodelavci na podlagi opravljenega kometnega testa na miših poročal o poškodbah DNA na želodcu, mehurju in črevesju. Ker histopatološki pregled ni pokazal sprememb na teh organih, je ANS te rezultate komentiral kot negotove. Po pregledu dostopnih kroničnih in študij kancerogenosti je tudi zaključil, da barvilo nima vpliva na kancerogenost (73).

Preobčutljivost in intoleranca

Intolerančne reakcije pri uporabnikih rdečega 4R naj bi izzvale mešanice več sintetičnih barvil, zato se povezava s pojavom teh reakcij ne more potrditi (73).

4.3.1.4 Črno PN (E 151)



Slika 7: Strukturna formula črnega PN

Empirična formula: $C_{28}H_{17}N_5Na_4O_{14}S_4$

Absorpcija intaktnega črnega PN iz gastrointestinalnega trakta je majhna, večina se ga izloči s fecesom. V krvni obtok pa se vseeno lahko absorbira nekaj od treh sulfoniranih aromatskih aminov, ki so produkt redukcije azo skupin v črevesju. Barvilo je najprej ovrednotil JECFA in določil vrednost ADI 1 mg/kg tt/dan, drugačno vrednost pa je podal SCF leta 1984, in sicer 5 mg/kg tt/dan na osnovi vrednosti NOAEL 500 mg/kg tt/dan. ANS je pri ponovnem ovrednotenju izpostavljenosti barvilu leta 2010 zaključil, da je pri največji uporabljeni količini barvila pri omejenem vnosu le-ta pod vrednostjo ADI, razen pri otrocih, mlajših od 10 let, pri katerih je pri visoki izpostavljenosti vnos lahko 6,9 mg/kg tt/dan, kar presega vrednost ADI. Kljub temu je ANS ocenil, da ni potrebno spreminjati vrednosti ADI, ki jo je nazadnje določil SCF (74).

Akutna in subkronična toksičnost

Gaunt je leta 1967 s sodelavci pri podganah določil vrednost $LD_{50} > 5000$ mg/kg tt. Subkronične toksikološke študije niso pokazale pomembnih neželenih učinkov (74).

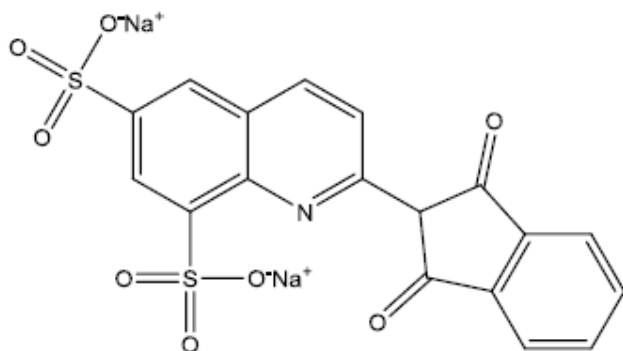
Genotoksičnost, kronična toksičnost in kancerogenost

Macioszek and Kononowicz sta leta 2004 opravila mikronukleusni in kometni test na človeških limfocitih in celicah čebule. Pri mikronukleusnem testu je v obeh celičnih sistemih prišlo do zvišanja števila mikro jeder, kometni test pa je pokazal poškodbe, odvisne od odmerka. ANS je na podlagi te študije podal mnenje, da obstaja verjetnost genotoksičnosti pri barvilu *in vitro*, biološka pomembnost pa je zaenkrat še nejasna. Študije kronične toksičnosti in kancerogenosti niso pokazale kancerogenega učinka (74).

Preobčutljivost in intoleranca

Študije kažejo, da barvilo nima lastnosti, ki bi lahko izzvale alergijsko ali intolerančno reakcijo (74).

4.3.2 Kinolinsko rumeno (E 104)



Slika 8: Strukturna formula kinolinsko rumenega

Empirična formula: $C_{18}H_9NO_8S_2Na_2$

Kinolinsko rumeno se iz gastrointestinalnega trakta absorbira v manjši meri (< 3 – 4 %). Večina se ga izloči nespremenjenega s fecesom, nekaj se ga pa vseeno lahko absorbira v krvni obok. V EU je barvilo dovoljeno kot aditiv E 104 za uporabo v živilih in farmacevtskih pripravkih, v ZDA pa se kot barvilo D&C rumeno št. 10 lahko uporablja le v zdravilih, kozmetičnih izdelkih in kontaktnih lečah ter ga je potrebno pred uporabo certificirati (52, 75).

Leta 1984 sta JECFA in SCF določila vrednost ADI 0 – 10 mg/kg tt/dan. Na podlagi dolgoročne študije kancerogenosti ter reproduktivne in razvojne toksičnosti na podganah je ANS določil vrednost NOAEL 50 mg/kg tt/dan in na osnovi tega novo vrednost ADI 0,5

mg/kg tt/dan. Leta 2009 ocenjena izpostavljenost barvilu naj bi krepko presegala vrednost ADI, zato je Evropska komisija zmanjšala najvišje dovoljene vsebnosti barvila (mg/L ali mg/kg) v Prilogi II k Uredbi 1333/2008/ES za faktor 1,1 do 50, odvisno od kategorije živil. EFSA je leta 2015 ponovno ocenila izpostavljenost, ki naj bi bila trenutno pod vrednostjo ADI za vse populacije (75).

Akutna in subkronična toksičnost

Akutna oralna toksičnost barvila je majhna. Britansko industrijsko-biološko združenje za raziskave (British Industrial Biological Research Association; BIBRA) poroča o vrednosti $LD_{50} > 2000$ mg/kg tt pri podganah. Subkronične študije niso pokazale toksičnosti (75).

Genotoksičnost

Na podlagi že prej omenjene študije Macioszeka and Kononowicza iz leta 2004 je ANS podal mnenje, da *in vitro* rezultati kažejo na možno genotoksičnost, vendar je še nejasno kakšen vpliv bi imelo barvilo na organizem (75).

Kronična toksičnost in kancerogenost

ANS je podobno kot že prej SCF, JECFA, BIBRA in SCCNFP zaključil, da številne dolgoročne študije kancerogenosti niso pokazale potenciala proučevanega barvila za ta učinek (75).

Preobčutljivost in intoleranca

Nekateri so poročali o pojavu preobčutljivostnih reakcij po zaužitju barvila, kot so urtikarija, rinitis in astma, vendar so potrebna na tem področju dodatna testiranja. Občutljivi posamezniki lahko reagirajo tudi pri količinah, ki so znotraj vrednosti ADI (75).

4.4 OCENA VARNOSTI BARVIL V PREGLEDANIH PRIPRAVKIH

Predstavili smo toksikološki profil najpogostejše zastopanih barvil v pregledanih izdelkih ter barvil z največ možnimi neželenimi učinki, ki smo jih prav tako zasledili v vitaminskih in mineralnih pripravkih. Da bi barvila lažje primerjali med seboj, smo podatke o vrednosti LD_{50} in NOAEL zbrali v preglednici IX.

Preglednica IX: Primerjava med posameznimi barvili v vrednosti LD₅₀ in NOAEL

Barvilo	LD ₅₀ (mg/kg tt); per os, podgana	NOAEL (mg/kg tt/dan)	Referenca
titanov dioksid	> 11000	ni določen	(59)
železovi oksidi in hidroksidi	> 10000	1000* (rdeči železov oksid)	(63)
riboflavin in riboflavin-5'-fosfat	> 20000	200*	(65)
tartrazin	> 2000	750*	(69)
oranžno FCF	> 2000	375	(72)
rdeče 4R	> 2000	70	(73)
črno PN	> 5000	500	(74)
kinolinsko rumeno	> 5000	50	(75)

* najvišji testirani odmerek

Iz preglednice IX je razvidno, da imajo barvila razmeroma nizko akutno toksičnost, saj vse vrednosti presegajo 2000 mg barvila/kg tt. Najmanj akutno toksični barvili sta riboflavin in riboflavin-5'-fosfat z vrednostjo LD₅₀ > 20000 mg/kg tt, sledijo jima titanov dioksid, železovi oksidi in hidroksidi, črno PN in kinolinsko rumeno. Akutno najbolj toksična barvila so azo barvila tartrazin, oranžno FCF in rdeče 4R.

Primerjava vrednosti NOAEL med posameznimi barvili predstavlja merilo toksičnosti pri ponovljivih odmerkih. Titanov dioksid nima določene vrednosti NOAEL, zato se s tega vidika smatra kot najmanj toksičen. Podobno kot železovi oksidi in hidroksidi nima določene najvišje dovoljene vsebnosti v živilih oziroma farmacevtskih pripravkih, kar kaže na razmeroma visoko zaupanje, da kot barvilo ne povzroča neželenih učinkov na organizem. Glede na vrednosti NOAEL lahko kot najbolj toksična opredelimo azo barvila in kinolinsko rumeno, pri katerih najdemo vrednosti tudi pod 100 mg/kg tt/dan.

V preglednici X so predstavljene vrednosti ADI in možni neželeni učinki posameznih barvil. Vrednost ADI ni določena pri titanovem dioksidu, železovih oksidih in hidroksidih ter riboflavinu in riboflavin-5'-fosfatu, kljub temu pa barvila lahko povzročajo neželene učinke. Za titanov dioksid so poročali, da lahko povzroča genotoksične učinke, vendar naj bi bili problematični le nanodelci, ki pa se jih v živilih in farmacevtskih pripravkih

najverjetneje ne uporablja dosti, saj ne izkazujejo belilnih lastnosti in ne omogočajo zelene motnosti, ki je pomembna za takšno uporabo. Glede akumulacije delcev titanovega dioksida zaenkrat še ni dovolj dokazov, kancerogenost pa je bila dokazana le po izpostavljenosti z inhalacijo, kar za naše delo ni pomembno. Železovi oksidi in hidroksidi veljajo v splošnem za varne, dokazi o toksičnosti delcev nano velikosti pa so zaenkrat še pomanjkljivi. Obstajajo primeri anafilaktične reakcije po zaužitju riboflavina v živilih, vendar so le-te zelo redke in omejene na občutljive posameznike.

Preglednica X: Primerjava med posameznimi barvili v vrednosti ADI in možnimi neželenimi učinki

Barvilo	ADI (mg/kg tt/dan)	Možni neželeni učinek	Reference
titanov dioksid	ni določen	genotoksični učinki nanodelcev rak na pljučih po inhalaciji akumulacija v telesnih organih	(48, 56, 57, 60)
železovi oksidi in hidroksidi	ni določen	toksični učinki nanodelcev	(63, 64)
riboflavin in riboflavin-5'-fosfat	ni določen	anafilaktična reakcija pri občutljivih posameznikih	(48, 65)
tartrazin	0 – 7,5	preobčutljivost hiperaktivnost nevrotoksičnost estrogenska aktivnost	(69, 70, 71)
oranžno FCF	0 – 4	preobčutljivost hiperaktivnost estrogenska aktivnost	(71, 72)
rdeče 4R	0 – 0,7	citotoksični učinki preobčutljivost hiperaktivnost	(73)
črno PN	0 – 5	<i>in vitro</i> genotoksični učinki hiperaktivnost	(74)
kinolinsko rumeno	0 – 0,5	<i>in vitro</i> genotoksični učinki preobčutljivost hiperaktivnost	(75)

Najvišjo določeno vrednost ADI ima tartrazin, in sicer se ga lahko dnevno zaužije 7,5 mg/kg tt. Povezujejo ga s kar nekaj neželenimi učinki, kot so intoleranca, hiperaktivnost pri otrocih, nevrotoksičnost in motnje učenja ter estrogenska aktivnost. Pogostost intolerance na tartrazin naj bi bila $< 1 \%$ pri posameznikih z urtikarijo in angioedemom, ki ju povzroči hrana. Glede povezave tartrazina in ostalih barvil s pojavom hiperaktivnosti pri otrocih zaenkrat niso podani konkretni zaključki, zato je težko opredeliti, kakšen vpliv ima to na varnost uporabe barvila. Nevrotoksičnost in estrogenska aktivnost sta bili dokazani pri testiranju odmerkov, ki krepko presegajo vrednost ADI, zato lahko predvidevamo, da pri normalnem vnosu hrane ter vitaminskimi in mineralnimi pripravki do omenjenih učinkov ne bi prišlo. Podobno velja pri barvilu oranžno FCF, katerega vrednost ADI znaša 4 mg/kg tt/dan. Barvilo črno PN naj bi povzročalo manj neželenih učinkov, obstajajo dokazi o genotoksičnih učinkih *in vitro*, za katere je težko opredeliti biološko pomembnost in dejanski vpliv na organizem. Črno PN je tudi edino azo barvilo, najdeno pri našem delu, ki naj ne bi izzvalo preobčutljivosti ali intolerance. Najnižji vrednosti ADI imata kinolinsko rumeno in rdeče 4R. Dnevno se ju lahko zaužije le 0,5 in 0,7 mg/kg tt, kar je približno 10 krat manj kot na primer tartrazina. Možni neželeni učinki, s katerimi ju povezujejo, so podobni kot pri ostalih omenjenih azo barvilih.

Na podlagi zbranih podatkov o toksičnosti posameznih barvil in zgornjih zaključkov lahko kot najbolj varna barvila, ki smo jih zasledili pri našem delu, opredelimo titanov dioksid, riboflavin in riboflavin-5'-fosfat ter železove okside in hidrokside, torej predvsem mineralna barvila in riboflavin kot vitamin. Takšna barvila imajo pri uporabi poleg obarvanja ponavadi še sekundarno vlogo. Tako lahko titanov dioksid poveča motnost pripravka in vpliva na zaščito učinkovine, dodatek riboflavina pa pozitivno vpliva pri pomanjkanju vitamina B2. Omenjena barvila so hkrati najpogosteje zastopana v pregledanih pripravkih, predvsem v skupini prehranskih dopolnil. Le-ta predstavlja kar 93,3 % vseh pregledanih pripravkov, ki vsebujejo barvila. Poleg tega so vitaminski in mineralni pripravki kot prehranska dopolnila na voljo širši populaciji, saj jih je možno kupiti ne samo v lekarnah in specializiranih prodajalnah, ampak tudi v drogerijah in prodajalnah z živili ter so ponavadi nižjega in srednjega cenovnega razreda. Na prodajnih policah lekarn in specializiranih prodajalnih najdemo predvsem zdravila brez recepta in določena prehranska dopolnila, ki so ponavadi dražja in tako na voljo omejenemu obsegu potrošnikov. Hkrati moramo upoštevati tudi pripravke, pri katerih nismo zasledili barvil,

saj je skoraj polovica vseh pregledanih pripravkov brez barvil. Na podlagi tega lahko sklepamo, da je tveganje za pojav neželenih učinkov pri vnosu barvil z vitaminskimi in mineralnimi pripravki, ki so na voljo v prosti prodaji na slovenskem trgu, razmeroma majhno.

Kot barvila z največ možnimi neželenimi učinki oziroma najmanj varna barvila so se izkazala azo barvila in kinolinsko rumeno, torej sintetična barvila. Dva najbolj pomembna neželena učinka, ki bi lahko nastala po zaužitju nekaterih omenjenih sintetičnih barvil, tudi v količinah pod vrednostjo ADI, sta možnost pojava preobčutljivosti ali intolerance in vpliv na vedenje otrok. Kljub temu, da gre za dva učinka, ki lahko dokaj resno vplivata na zdravje ljudi, so živila oziroma farmacevtski pripravki, ki vsebujejo zadevna barvila, še zmeraj na trgu v EU, nekatera pa tudi v ZDA. Težko je opredeliti varnost teh barvil v vitaminskih in mineralnih pripravkih, saj so potrebna nadaljnja testiranja na tem področju. Glede vpliva barvil na vedenje otrok se lahko opiramo na mnenje EFSA in FDA, ki povezave zaenkrat še nista potrdila. Na zvišanje stopnje varnosti takšnih barvil pri uporabi v vitaminskih in mineralnih pripravkih pa pomembno vplivajo opozorila, ki jih predpisujeta Uredba 1333/2008/ES in Pravilnik o označevanju in navodilu za uporabo zdravil za uporabo v humani medicini. Kot smo že omenili, smo pri našem delu pri tem naleteli na kar nekaj pomanjkljivosti, saj potrebnih opozoril nismo zasledili na vseh izdelkih, kar lahko vpliva na povečanje tveganja. Vendar pa je pripravkov, ki vsebujejo omenjena sintetična barvila samo 6, kar predstavlja 5,0 % v skupini pripravkov, ki vsebujejo barvila, in le 2,5 % vseh pregledanih pripravkov. Na podlagi tega sklepamo, da je omenjeno tveganje za nastanek neželenih učinkov pri uživanju azo barvil v pregledanih vitaminskih in mineralnih pripravkih zanemarljivo.

Pred začetkom dela smo si zastavili hipotezo, da vsebujejo vitaminski in mineralni pripravki, registrirani kot zdravila brez recepta, bolj varna barvila kot prehranska dopolnila. Pregledana zdravila brez recepta z vsebovanimi barvili so predstavljena v preglednici XI.

Preglednica XI: Vitaminski in mineralni pripravki, registrirani v Sloveniji kot zdravila brez recepta, in vsebovana barvila

Proizvajalec	Ime zdravila	Splošno ime barvila	E-število barvila
Bayer	Elevit Pronatal, filmsko obložene tablete	titanov dioksid, rumeni železov oksid	E 171, E 172
Krka	B-complex, obložene tablete	kalcijev karbonat, rjavi železov oksid, črno PN, oranžno FCF, tartrazin	E 170, E 172, E 151, E 110, E 102
Krka	CalciumvitaC, šumeče tablete	rdeče 4R	E 124
Krka	Pikovit forte 7+, obložene tablete	titanov dioksid, beta karoten	E 171, E 160a(ii)
Krka	Pikovit 4+, obložene tablete	titanov dioksid, rdeče 4R, oranžno FCF, kinolinsko rumeno, indigotin	E 171, E 124, E 110, E 104, E 132
Krka	Magnesol, šumeče tablete	oranžno FCF	E 110
Wörwag Pharma	Milgamma, obložene tablete	kalcijev karbonat, titanov dioksid	E 170, E 171
Krka	Pikovit, sirup	rdeče 4R	E 124

Kot smo že omenili, so v skupini prehranskih dopolnil najpogostejše zastopana mineralna barvila titanov dioksid, železovi oksidi in hidroksidi ter riboflavin in riboflavin-5'-fosfat, le en pripravek vsebuje azo barvila (0,9 %). Iz preglednice XI pa je razvidno, da skupina zdravil brez recepta vsebuje azo barvila in/ali kinolinsko rumeno v kar 5 pripravkih od skupno 8 (62,5 %). Torej lahko zaključimo, da vitaminski in mineralni pripravki, ki so registrirani kot zdravila brez recepta, vsebujejo potencialno bolj toksična barvila kot prehranska dopolnila in zgornjo hipotezo zavrnamo.

Naslednja hipoteza se je glasila, da vitaminski in mineralni pripravki vsebujejo pretežno barvila, ki niso možni alergeni. Kot možne alergene lahko opredelimo predvsem azo barvila tartrazin, oranžno FCF, rdeče 4R in kinolinsko rumeno ter tudi riboflavin, ki je pri občutljivih posameznikih sposoben izzvati anafilaktično reakcijo. V skupini pregledanih prehranskih dopolnil smo zasledili samo en pripravek, ki vsebuje azo barvila in 17 pripravkov, ki vsebujejo riboflavin. V preglednici XI vidimo, da vsebuje v skupini zdravil brez recepta omenjena azo barvila in/ali kinolinsko rumeno 5 pripravkov. Od skupno pregledanih 239 pripravkov vsebuje barvila, ki so možni alergeni, 23 pripravkov, kar znaša

9,6 %. Hipotezo lahko potrdimo, saj takšna barvila vsebuje manj kot 10 % pregledanih pripravkov.

Vitaminski in mineralni pripravki, namenjeni otrokom, iz skupine prehranskih dopolnil vsebujejo predvsem naravna barvila, medtem ko najdemo v skupini zdravil brez recepta, namenjenih tej populaciji, tudi sporna azo barvila in/ali kinolinsko rumeno v 2 od skupno 3 pripravkov. Zanimivo je, da eden od teh dveh pripravkov vsebuje 2 različni azo barvili ter poleg titanovega dioksida in indigotina še kinolinsko rumeno, torej skupno 5 različnih barvil, namenjen pa je otrokom, starejšim od 4 let. Pri obeh pripravkih prav tako nismo na embalaži ali v navodilu za uporabo zasledili navedenega opozorila, da lahko omenjena barvila vplivajo na aktivnost in pozornost otrok, kot to zahteva Pravilnik o označevanju in navodilu za uporabo zdravil za uporabo v humani medicini. Polovica vseh pripravkov za otroke ne vsebuje barvil, tako da se sporna barvila pojavljajo le v 11,1 % pripravkov. Na podlagi tega lahko ocenimo barvila, uporabljena v pripravkih za otroke, kot razmeroma varna. Morebitno tveganje bi lahko zmanjšali z navedbami omenjenih opozoril, najbolje pa bi bilo, da se azo barvila v vitaminskih in mineralnih pripravkih, namenjenih otrokom, niti ne bi uporabljala.

Zanimivo je, da najdemo sporna barvila ravno v zdravilih brez recepta, ki so na voljo le v lekarnah in specializiranih prodajalnah. Le-tem ljudje pri nakupu ponavadi bolj zaupajo glede kakovosti vitaminskih in mineralnih pripravkov, če seveda poznajo razlike med prehranskim dopolnilom in zdravilom brez recepta. Ne samo, da v skupini zdravil brez recepta najdemo bolj toksična barvila, vsebujejo le-ta tudi povprečno večje število barvil na posamezen pripravek, kar še dodatno poveča tveganje za pojav neželenih učinkov.

4.4.1 Izpostavljenost posameznim barvilom

Za oceno tveganja za pojav neželenih učinkov pri vnosu barvil z vitaminskimi in mineralnimi pripravki je pomembna tudi ocena izpostavljenosti posameznim barvilom, ki smo jo določili na podlagi objavljenih podatkov s strani NIJZ.

Prehranski vnos barvil je bil ocenjen v različnih živilih ter tudi v prehranskih dopolnilih v različnih oblikah. Za naše delo so pomembni predvsem podatki o vnosu barvil s prehranskimi dopolnili, tako da smo upoštevali podatke za prehranska dopolnila v trdni in tekoči obliki ter v obliki sirupa ali za žvečenje. V preglednici XII smo prikazali skupne

vrednosti TMDI za omenjene oblike prehranskih dopolnil za barvila, ki smo jih zasledili pri pregledu pripravkov. Vrednosti ADI za omenjena barvila se gibljejo v razponu od 0,5 mg/kg tt/dan za kinolinsko rumeno do 12 mg/kg tt/dan za anato (53).

Preglednica XII: Ocena TMDI posameznih barvil v prehranskih dopolnilih z deležem vrednosti ADI ter celokupni delež vrednosti ADI, dosežen z vnosom vseh ocenjenih živil (53)

Barvilo	Najvišja dovoljena vsebnost v prehranskih dopolnilih (mg/kg)	Poraba prehranskih dopolnil (g/dan)	TMDI (mg/kg tt/dan)	Delež ADI (%)	Celokupni delež ADI (%)
kurkumin	500	4,8	0,014	0,45	20,0
tartrazin	500	4,8	0,014	0,19	8,2
kinolinsko rumeno	55	4,8	0,001	0,29	33,2
oranžno FCF	30	4,8	0,000	0,03	2,9
karmini	400	3,2	0,011	0,21	14,1
rdeče 4R	55	4,8	0,001	0,21	10,7
modro V	500	4,8	0,014	0,26	12,0
indigotin	500	4,8	0,014	0,26	12,0
modro FCF	500	4,8	0,014	0,19	8,6
črno PN	500	4,8	0,014	0,26	12,0
anato	500	4,8	0,014	2,21	4,9

V preglednici XII vidimo, da vrednost ADI ni bila presežena z vnosom živil in prehranskih dopolnil pri nobenem ocenjenem barvilu. Najvišji delež vrednosti ADI je z vnosom prehranskih dopolnil doseglo barvilo anato (2,21 %), dodaten vnos tega barvila z živili pa predstavlja le dvajsetino vrednosti ADI. Vnos s prehranskimi dopolnili je pri ostalih barvilih pod 1 % vrednosti ADI, najvišji delež, ki ga dosežemo z dodatnim vnosom z živili, pa je bil ocenjen pri barvilu kinolinsko rumeno, in znaša le 33,2 % vrednosti ADI. S prehranskimi dopolnili naj bi zaužili količinsko najmanj barvil oranžno FCF, rdeče 4R in kinolinsko rumeno, najnižje deleže vrednosti ADI pa naj bi na takšen način dosegli pri oranžnem FCF in tartrazinu.

Povzamemo lahko, da je ocenjen vnos najbolj spornih azo barvil in kinolinsko rumenega pri potrošnikih v Sloveniji zelo nizek, in predstavlja pri najbolj precejenem vnosu barvil s prehranskimi dopolnili in dodatno z živili največ tretjino vrednosti ADI. Pri tem moramo upoštevati tudi dejstvo, da vsa prehranska dopolnila tudi niso vitaminski in mineralni pripravki, tako da bi bil ocenjeni vnos barvil s takšnimi pripravki primerno nižji, prišteti pa bi mu pa morali še vnos barvil z vitaminskimi in mineralnimi pripravki, registriranimi kot zdravila brez recepta, saj le ti niso bili predmet ocenjevanja. Ker pa je bilo takšnih pripravkov le 3,3 % od vseh pregledanih, lahko tak vnos zanemarimo.

Na podlagi pregledane literature o varnosti najpogostejše zastopanih barvil v pregledanih pripravkih in barvil, ki imajo največ možnih neželenih učinkov na organizem, ter na podlagi podatkov o ocenjeni izpostavljenosti posameznim barvilom z uživanjem živil in prehranskih dopolnil lahko zaključimo, da je tveganje za morebitne neželene učinke zaradi vsebnosti barvil v vitaminskih in mineralnih pripravkih, ki so dostopni slovenskim potrošnikom, zelo majhno. Največje možno tveganje predstavljajo barvila, ki lahko izzovejo preobčutljivostno reakcijo, do katere lahko pride tudi pri količinah, ki so pod vrednostjo ADI, in jih je zelo težko predvideti že zaradi same narave takšne reakcije. Pripravkov, ki vsebujejo barvila, ki so resni možni alergeni, pa je razmeroma malo in niso dostopna širši populaciji, saj jih ne najdemo na prodajnih policah drogerij in prodajaln z živili. Ugotovili smo tudi, da so bila opozorila o možnem pojavu alergijske reakcije na vseh pripravkih razen enem ustrezno označena. Na ta način je poskrbljeno tudi za varnost občutljivih posameznikov. Tako lahko ocenimo, da so barvila v vitaminskih in mineralnih pripravkih, ki so na voljo v prosti prodaji na slovenskem trgu, varna.

5 SKLEP

V magistrski nalogi smo z določitvijo barvil v vitaminskih in mineralnih pripravkih, ki so v prosti prodaji na slovenskem trgu, in pregledom veljavne zakonodaje prišli do naslednjih zaključkov:

- Vitaminske in mineralne pripravke, ki so dosegljivi potrošnikom v Sloveniji, lahko razvrstimo med prehranska dopolnila in zdravila brez recepta. Slednja morajo zadostiti strogim pogojem o varnosti, kakovosti in učinkovitosti, medtem ko morajo prehranska dopolnila izpolniti le zahteve o varnosti.
- Na področju barvil velja v EU Uredba 1333/2008/ES ter seznam za aditive, vzpostavljen z Uredbo 1129/2011/EU. Po Direktivi 2009/35/ES se lahko v zdravilih uporabljajo barvila, ki so dovoljena za uporabo v živilih. V ZDA je v skladu z zakonom FD&C za uporabo v zdravilih dovoljenih več barvil kot za uporabo v živilih.
- Pregledali smo 239 vitaminskih in mineralnih pripravkov, od tega 227 prehranskih dopolnil in 12 pripravkov, registriranih v Sloveniji kot zdravila brez recepta, ter ugotovili, da skoraj polovica ne vsebuje barvil. Na podlagi tega smo lahko zavrnili hipotezo, da večina pripravkov vsebuje barvila.
- Barvila v pripravkih so bila označena v skladu z zakonodajo, na pomanjkljivosti smo naleteli le pri navajanju opozoril o možnosti vpliva barvil na aktivnost in pozornost otrok. Opozorilo o možnem pojavu preobčutljivostnih reakcij ni bilo navedeno le pri enem prehranskem dopolnilu.
- Ugotovili smo, da skoraj tri četrtine pripravkov z barvili vsebuje le eno barvilo in zavrnili hipotezo, da so barvila v pripravkih prisotna v kombinaciji vsaj dveh barvil. Ugotovili smo tudi, da vsebujejo zdravila brez recepta z vitamini in minerali povprečno večje število barvil v posameznem pripravku kot prehranska dopolnila.
- Hipotezo, da se netopna anorganska barvila, ki povečajo stabilnost zdravilne učinkovine, uporabljajo predvsem v pripravkih, ki so registrirani kot zdravila brez recepta, smo potrdili, saj smo barvila zasledili v 10,8 % več pripravkih iz skupine zdravil brez recepta kot v prehranskih dopolnilih.

- Med pripravki, ki so namenjeni otrokom, in tistimi, ki so namenjeni odraslim, nismo našli bistvenih razlik v številu barvil, ki so v posameznem pripravku in zavrnilo hipotezo, da vitaminski in mineralni pripravki, namenjeni otrokom, vsebujejo največ različnih barvil, da jih le-ti raje zaužijejo.
- Hipotezo, da pripravki, namenjeni otrokom, ne vsebujejo azo barvil smo prav tako morali zavrniti, saj smo omenjena barvila našli v 11,1 % pripravkov in to v skupini zdravil brez recepta. Opazili smo, da gre za pripravka, ki nimata navedenega opozorila o možnem vplivu teh barvil na aktivnost in pozornost otrok.
- Najpogosteje zastopana barvila so bila titanov dioksid, železovi oksidi in hidroksidi ter riboflavin in riboflavin-5'-fosfat, ki so se izkazala tudi za najbolj varna barvila. Neželene učinke lahko povzročajo predvsem nanodelci titanovega dioksida, ki pa se v živilih in zdravilih praviloma ne uporabljajo, ker so brezbarvni in nimajo belilnega učinka ter ne povzročajo zelene motnosti.
- Barvila z največ možnimi neželenimi učinki so bila sintetična azo barvila in kinolinsko rumeno. Vse povezujejo z možnostjo pojava preobčutljivosti in vplivom na vedenje otrok. EFSA in FDA slednje povezave nista potrdila, zato sklepamo, da največje tveganje za neželene učinke pri vnosu barvil z vitaminskimi in mineralnimi pripravki predstavlja možna preobčutljivostna reakcija.
- Azo barvila smo našli v kar 62,5 % pripravkov iz skupine zdravil brez recepta in zavrnilo hipotezo, da vitaminski in mineralni pripravki, registrirani kot zdravila brez recepta, vsebujejo bolj varna barvila kot prehranska dopolnila.
- Možne alergene, kot so azo barvila, kinolinsko rumeno in riboflavin, smo našli v 9,6 % vseh pripravkov in potrdili hipotezo, da vitaminski in mineralni pripravki vsebujejo pretežno barvila, ki ne povzročajo preobčutljivostnih reakcij.
- Ocenjena izpostavljenost barvilom je v Sloveniji z vnosom živil in prehranskih dopolnil relativno majhna in ne presega vrednosti ADI. Barvila, ki naj bi jih po ocenah NIJZ količinsko najmanj zaužili, pa so ravno najbolj sporna barvila, najdena v pregledanih pripravkih, oranžno FCF, rdeče 4R in kinolinsko rumeno.
- Na podlagi vseh dobljenih rezultatov pregleda vitaminskih in mineralnih pripravkov v prosti prodaji na slovenskem trgu sklepamo, da so uporabljena barvila v njih varna.

6 LITERATURA

1. Pravilnik o prehranskih dopolnilih, 2013, Uradni list Republike Slovenije, 66: 7938 – 7940
2. Ministrstvo za zdravje Republike Slovenije: Raziskava javnega mnenja o uporabi prehranskih dopolnil, 2010, http://www.mz.gov.si/fileadmin/mz.gov.si/pageuploads/zakonodaja/mednarodna_zakonodaja/VARNOST_%C5%BDIVIL/PARSIFAL-porocilo_raziskave.pdf, nazadnje dostopano 18.9.2015
3. Ministrstvo za zdravje Republike Slovenije: Napotki glede področja prehranskih dopolnil v Republiki Sloveniji in skladnosti tovrstnih izdelkov z veljavno zakonodajo, 2014, http://www.mz.gov.si/fileadmin/mz.gov.si/pageuploads/javno_zdravje_2014/napotki_s_podrocja_prehranskih_dopolnil_2015.pdf, nazadnje dostopano 18.9.2015
4. Uredba Evropskega parlamenta in Sveta 1924/2006/ES o prehranskih in zdravstvenih trditvah na živilih, 2006, Uradni list Evropske Unije, L 404: 9 – 25
5. Uredba Komisije 1170/2009/ES o spremembi Direktive 2002/46/ES in Uredbe Evropskega parlamenta in Sveta 1925/2006/ES glede seznamov vitaminov in mineralov ter njihovih oblik, ki se lahko dodajo živilom, vključno s prehranskimi dopolnili, 2009, Uradni list Evropske Unije, L 314: 36 – 42
6. Uredba Evropskega parlamenta in Sveta 178/2002/ES o določitvi splošnih načel in zahtevah živilske zakonodaje, ustanovitvi Evropske agencije za varnost hrane in postopkih, ki zadevajo varnost hrane, 2002, Uradni list Evropske Unije, L 31: 1 – 24
7. FDA: Questions and Answers on Dietary Supplements, 2015, <http://www.fda.gov/Food/DietarySupplements/QADietarySupplements/default.htm>, nazadnje dostopano 20.10.2015
8. Čater N: Uporaba prehranskih dopolnil – vidik lekarniškega farmacevta. Prehranska dopolnila II, Fakulteta za farmacijo, Ljubljana, 2010: 122 – 128
9. Zakon o zdravilih, 2014, Uradni list Republike Slovenije, 17: 1894 – 1943

10. Pravilnik o razvrščanju, predpisovanju in izdajanju zdravil za uporabo v humani medicini, 2008, Uradni list Republike Slovenije, 86: 11978 – 11985
11. JAZMP: Smernice za opredelitev izdelkov, ki lahko hkrati sodijo v opredelitev zdravila in izdelka, ki je predmet drugih predpisov za uporabo pri ljudeh, 2014, http://www.jazmp.si/fileadmin/datoteke/dokumenti/SRZH/Opredelitev_izdelkov/smer-nice-nacionalne.pdf, nazadnje dostopano 21.10.2015
12. Mortensen A: Carotenoids and other pigments as natural colorants. *Pure and Applied Chemistry*, 2006; 48 (8): 1477 – 1491
13. Downham A, Collins P: Colouring our foods in the last and next millennium. *International Journal of Food Science and Technology*, 2000; 35: 5 – 22
14. Kanekar H, Khale A: Coloring agents: Current regulatory perspective for coloring agents intended for pharmaceutical and cosmetic use. *International Journal of Pharmaceutical and Phytopharmacological Research*, 2014; 3 (5): 365 – 373
15. Natural Food Colours Association: The legislation of foods colours in Europe, 2015, <http://www.natcol.org/node/19>, nazadnje dostopano 23.9.2015
16. Direktiva Sveta 62/2645/EGS o približevanju zakonodaj držav članic o barvilih, ki se smejo uporabiti v živilih, namenjenih za prehrano ljudi, 1962, Uradni list Evropskih skupnosti, 115: 2645 – 2654
17. Direktiva Sveta 78/25/EGS o približevanju zakonov držav članic v zvezi z barvili, ki se lahko dodajajo zdravilom, 1978, Uradni list Evropskih skupnosti, L 11: 18 – 20
18. Allam K V, Kumar G P: Colorants – the cosmetics for the pharmaceutical dosage forms. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 2011; 3 (3): 13 – 21
19. Amchova P, Kotolova H, Ruda-Kucerova J: Health safety issues of synthetic food colorants. *Regulatory toxicology and pharmacology*, 2015; 73 (3): 914 – 922
20. Delgado-Vargas F, Paredes-López O: Natural colorants for food and nutraceutical uses, CRC Press, Boca Raton, 2003: 327

21. Uredba Komisije 1129/2011/EU o spremembi Priloge II k Uredbi 1333/2008/ES z vzpostavitev seznamov Unije aditivov za živila, 2011, Uradni list Evropske Unije, L 295: 1 – 177
22. Nollet M L L, Toldrá F: Handbook of food analysis, 3. izdaja, CRC Press, Boca Raton, 2015: 106 – 109
23. Uredba Komisije 380/2012/EU o spremembi Priloge II k Uredbi 1333/2008/ES Evropskega parlamenta in Sveta v zvezi s pogoji in ravni uporabe za aditive za živila, ki vsebujejo aluminij, 2012, Uradni list Evropske Unije, L 119: 14 – 38
24. Smith P: The colouration of tablets and capsules, 2010, http://www.manufacturingchemist.com/technical/article_page/The_colouration_of_tablets_and_capsules/34905, nazadnje dostopano 30.9.2015
25. Direktiva Evropskega parlamenta in Sveta 94/36/ES o barvilih za uporabo v živilih, 1994, Uradni list Evropskih skupnosti, L 237: 13 – 29
26. Direktiva Komisije 95/45/ES o določitvi posebnih meril čistosti v zvezi z barvili za uporabo v živilih, 1995, Uradni list Evropskih skupnosti, L 226: 1 – 45
27. Uredba Evropskega parlamenta in Sveta 1333/2008/ES o aditivih za živila, 2008, Uradni list Evropske Unije, L 354, 16 – 33
28. Direktiva Komisije 2008/128/ES o določitvi posebnih meril čistosti v zvezi z barvili za uporabo v živilih, 2008, Uradni list Evropske Unije, L 6: 20 – 63
29. Uredba Komisije 231/2012/EU o določitvi specifikacij za aditive za živila, navedene v prilogah II in III k Uredbi 1333/2008/ES, 2012, Uradni list Evropske Unije, L 83: 1 – 295
30. Direktiva Evropskega parlamenta in Sveta 2009/35/ES o barvilih, ki se lahko dodajajo zdravilom, 2009, Uradni list Evropske Unije, L 109: 10 – 13
31. Uprava Republike Slovenije za varno hrano, veterinarstvo in varstvo rastlin: Aditivi, http://www.uvhvvr.gov.si/si/zakonodaja_in_dokumenti/zivila/aditivi_encimi_in_arome_za_zivila_ter_ekstrakcijska_topila/, nazadnje dostopano 30.9.2015

32. Uredba o izvajanju uredbe (ES) o aditivih za živila, 2011, Uradni list Republike Slovenije, 12: 1361 – 1362
33. Frantar J: Novosti na področju aditivov, arom in encimov, 2015, <https://www.gzs.si/Portals/Panoga-Kmetijska-Zivilska/1%20Jana%20Frantar.pdf>, nazadnje dostopano 30.9.2015
34. Uredba Evropskega parlamenta in Sveta 1169/2011/EU o zagotavljanju informacij o živilih potrošnikom, 2011, Uradni list Evropske Unije, L 304: 18 – 63
35. Pravilnik o splošnem označevanju predpakiranih živil, 2014, Uradni list Republike Slovenije, 36: 4082 – 4093
36. Pravilnik o barvilih, ki se smejo dodajati zdravilom, 2008, Uradni list Republike Slovenije, 86: 11991 – 11993
37. Pravilnik o označevanju in navodilu za uporabo zdravil za uporabo v humani medicini, 2014, Uradni list Republike Slovenije, 57: 6559 – 6575
38. FDA: Color Additives: FDA's Regulatory Process and Historical Perspectives, 2014, <http://www.fda.gov/ForIndustry/ColorAdditives/RegulatoryProcessHistoricalPerspectives/default.htm>, nazadnje dostopano: 1.10.2015
39. FDA: Generally Recognized as Safe (GRAS), 2015, <http://www.fda.gov/Food/IngredientsPackagingLabeling/GRAS/>, nazadnje dostopano 7.10.2015
40. Vombergar B: Zakonske podlage za E-dodatke v živilih. E-dodatki v živilstvu in prehrani, Živilska šola Maribor, Maribor, 2007: 5 – 19
41. Class Names and the International Numbering System for Food Additives, ftp://ftp.fao.org/codex/Meetings/CCFAC/ccfac31/INS_e.pdf, nazadnje dostopano 28.12.2015
42. FDA: Summary of Color Additives for Use in the United States in Foods, Drugs, Cosmetics, and Medical Devices, 2015,

- <http://www.fda.gov/ForIndustry/ColorAdditives/ColorAdditiveInventories/ucm115641.htm>, nazadnje dostopano 14.10.2015
43. SDC, AATCC: Colour Index, <http://colour-index.com/about>, nazadnje dostopano 28.12.2015
 44. Elmadfa I, Muskat E, Fritzsche D: Števila E, Mladinska knjiga Založba, Ljubljana, 2007: 5 – 15
 45. Codex Alimentarius, <http://www.codexalimentarius.org/>, nazadnje dostopano 10.10.2015
 46. Komisija Evropskih skupnosti: Poročilo Komisije Evropskemu parlamentu in Svetu o napredku pri ponovnem ovrednotenju aditivov za živila, 2007, <http://ec.europa.eu/transparency/regdoc/rep/1/2007/SL/1-2007-418-SL-F1-1.Pdf>, 7.10.2015
 47. European Commission: Report from the Commission on dietary food additive intake in the European Union, http://ec.europa.eu/food/fs/sfp/addit_flavor/flav15_en.pdf, nazadnje dostopano 7.10.2015
 48. EFSA: Opinion of the Scientific Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Materials in Contact with Food. EFSA Journal, 2007; 515: 1 – 28
 49. McCann D, Barrett A, Cooper A: Food additives and hyperactive behaviour in 3-year-old and 8/9-year-old children in the community: a randomised, double-blinded, placebo-controlled trial. Lancet, 2007; 370 (9598): 1560 – 1567
 50. EFSA: Letno poročilo 2009, http://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/corporate_publications/files/ar09sl0.pdf, nazadnje dostopano 8.10.2015
 51. EFSA: Scientific Opinion on the appropriateness of the food azo - colours Tartrazine (E 102), Sunset Yellow FCF (E 110), Carmoisine (E 122), Amaranth (E 123), Ponceau 4R (E 124), Allura Red AC (E 129), Brilliant Black BN (E 151), Brown FK (E 154), Brown HT (E 155) and Litholrubine BK (E 180) for inclusion in the list of f

ood ingredients set up in Annex IIIa of Directive 2000/13/EC. EFSA Journal, 2010; 8 (10): 1178

52. Center for Food Safety and Applied Nutrition: Possible Association with Attention Deficit Hyperactivity Disorder in Children, 2011, <http://www.fda.gov/downloads/AdvisoryCommittees/CommitteesMeetingMaterials/FoodAdvisoryCommittee/UCM248549.pdf>, nazadnje dostopano 18.10.2015
53. Nacionalni inštitut za javno zdravje: Ocena tveganja za zdravje ljudi zaradi vnosa določenih aditivov in arom s hrano, 2015, http://www.uvhvvr.gov.si/fileadmin/uvhvvr.gov.si/pageuploads/DELOVNA_PODRO_CJA/Zivila/aditivi_arome_encimi/ADITIVI_vnos_2014_NIJZp.pdf, nazadnje dostopano 23.1.2016
54. Jones D: Pharmaceutical Statistics, 1. izdaja, Pharmaceutical Press, London, 2002: 261 – 271
55. Rowe R C, Sheskey P J, Quinn M E: Handbook of pharmaceutical excipients, 6. izdaja, Pharmaceutical Press, London, 2009: 340 – 341, 741 – 744
56. Skočaj M, Filipič M, Petković J, Novak S: Titanium dioxide in our everyday life; is it safe?. Radiology and oncology, 2011; 45 (4): 227-247
57. Warheit D B, Donner E M: Risk assessment strategies for nanoscale and fine-sized titanium dioxide particles: Recognizing hazard and exposure issues. Food and Chemical Toxicology, 2015
58. U.S. Government publishing office: Eletronic code of federal regulations, 2015, http://www.ecfr.gov/cgi-bin/retrieveECFR?gp=&SID=17723345ba7c363ef25a68e9776aa2cd&r=PART&n=21y1.0.1.1.27#se21.1.73_1575, nazadnje dostopano 19.10.2015
59. SCCNFP: Opinion of the scientific committee on cosmetic products and non-food products intended for consumers concerning titanium dioxide, 2000, http://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/sccp/documents/out135_en.pdf, nazadnje dostopano 15.10.2015

60. IARC: IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans: carbon black, titanium dioxide and talc, 2010, <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol93/mono93.pdf>, nazadnje dostopano 15.10.2015
61. Uredba Komisije 510/2013/ES o spremembi prilog I, II in III k Uredbi Evropskega parlamenta in Sveta 1333/2008/ES glede uporabe železovih oksidov in hidroksidov (E 172), hidroksipropilmetil celuloze (E 464) in polisorbatov (E 432 – E 436) za označevanje nekaterih vrst sadja, 2013, Uradni list Evropske Unije, L 150: 17 – 20
62. WHO: Evaluation of national assessments of intake of iron oxides, 2000, <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v44jec18.htm>, nazadnje dostopano 16.10.2015
63. EFSA: Scientific Opinion on the re-evaluation of iron oxides and hydroxides (E 172) as food additives. EFSA Journal, 2015; 13 (12): 4317
64. TemaNord: Food additives in Europe 2000 – Status of safety assessments of food additives presently permitted in the EU, 2002, <http://www.feingold.org/Research/PDFstudies/FoodAdditivesEurope.pdf>, nazadnje dostopano 16.10.2015
65. EFSA: Scientific Opinion on the re-evaluation of riboflavin (E 101(i)) and riboflavin-5'-phosphate sodium (E 101(ii)) as food additives. EFSA Journal, 2013; 11 (10): 3357
66. Inštitut za varovanje zdravja Republike Slovenije: Referenčne vrednosti za vnos vitaminov in mineralov – tabelarična priporočila za otroke, mladostnike, odrasle in starejše, 2013, http://www.nijz.si/sites/www.nijz.si/files/uploaded/referencne_vrednosti_za_vnos.pdf, nazadnje dostopano 17.10.2015
67. Węglarz-Tomczak E, Górecki Ł: Azo dyes – biological activity and synthetic strategy. Chemik, 2012; 66 (12): 1298 – 1307

68. EFSA: Assessment of the results of the study by McCann et al. (2007) on the effect of some colours and sodium benzoate on children's behaviour. EFSA Journal, 2008; 660: 1 – 54
69. EFSA: Scientific Opinion on the re-evaluation Tartrazine (E 102). EFSA Journal, 2009; 7 (11): 1331
70. Gao Y, Li C, Shen J: Effect of food azo dye tartrazine on learning and memory functions in mice and rats, and the possible mechanisms involved. Journal of food science, 2011; 76: 125 – 129
71. Axon A, May F E, Gaughan L E: Tartrazine and sunset yellow are xenoestrogens in a new screening assay to identify modulators of human oestrogen receptor transcriptional activity. Toxicology, 2012; 298: 40 – 51
72. EFSA: Opinion on the re-evaluation of Sunset Yellow FCF (E 110) as a food additive. EFSA Journal, 2009; 7 (11): 1330
73. EFSA: Opinion on the re-evaluation of Ponceau 4R (E 124) as a food additive. EFSA Journal, 2009; 7 (11): 1328
74. EFSA: Scientific Opinion on the re-evaluation of Brilliant Black BN (E 151) as a food additive. EFSA Journal, 2010; 8 (4): 1540
75. EFSA: Scientific Opinion on the re-evaluation of Quinoline Yellow (E 104) as a food additive. EFSA Journal, 2009; 7 (11): 1329

PRILOGE

Priloga 1: Vrste naravnih barvil s pripadajočimi barvnimi odtenki ter primeri barvil, dovoljenimi za uporabo v EU

Vrsta barvil	Barva	Splošno ime barvila	E-število barvila
karotenoidi	rumena, oranžna, rdeča	karoteni, izvlečki anata, ekstrakt paprike, likopen, lutein, kantaksantin	E 160a, E 160b, E 160c, E 160d, E 161b, E 161g
antocianini	rdeča, modra, vijolična	antocianini	E 163
betalaini	rdeča	betanin	E 162
klorofili	zelena	klorofili	E 140
kurkuminoidi	rumena	kurkumin	E 110
flavini	rumena	riboflavin	E 101
antrakinoni	rdeča, vijolična	karminska kislina	E 120
karamel	rdeče rjava, rjava črna	karamel	E 150a

Priloga 2: Vrste sintetičnih barvil s pripadajočimi barvnimi odtenki ter primeri barvil, dovoljenimi za uporabo v EU

Vrsta barvil	Barva	Splošno ime barvila	E-število barvila
azo barvila	rumena, oranžna, rdeča, modra, vijolična, rjava, črna	tartrazin, oranžno FCF, azorubin, amarant, rdeče 4R, rdeče AC, črno PN, rjavo HT	E 102, E 110, E 122, E 123, E 124, E 129, E 151, E 155
triarilmetani	svetlo zelena ali modra	modro V, modro FCF, zeleno S	E 131, E 133, E 142
ksanteni	rdeča	eritrozín	E 127
kinolini	rumena	kinolinsko rumeno	E 104
indigoidi	temno modra	indigotin	E 132

Priloga 3: Seznam pregledanih prehranskih dopolnil z barvili

Blagovna znamka	Ime prehranskega dopolnila	Splošno ime barvila	E-število barvila	Σ barvil
Abtei	Magnezij + kalcij + D3, šumeče tablete	riboflavin	E 101(i)	1
Abtei	Carotin plus, kapsule	železovi oksidi	E 172	1
Abtei	Magnezij 400, tablete	titanov dioksid	E 171	1
Abtei	Magnezij + kalcij + D3	titanov dioksid	E 171	1
Abtei	Magnezij + kalij depo pripravek, tablete	titanov dioksid	E 171	1
Amos Vital	Vitamin C, tablete za lizanje	suhi ekstrakt rdeče pese	E 162	1
Bion	Bion 3, tablete	železov oksid	E 172	1
Bion	Bion 3 Seniors, tablete	železov oksid, modro FCF	E 172, E 133	2
Bion	Femibion 2 - brez joda, tablete in kapsule	titanov dioksid, železovi oksidi in hidroksidi	E 171, E 172	2
Braunemon	Braunemon kapsule za porjavenje	rumeni železov oksid	E 172	1
Centrum	Od A do Ž, tablete	titanov dioksid, indigotin	E 171, E 132	2
Centrum	Od A do Ž Silver 50+, tablete	titanov dioksid, rastlinsko oglje	E 171, E 153	2
Das gesunde PLUS	Multi-Mineral, šumeče tablete	riboflavin	E 101(i)	1
Das gesunde PLUS	Kapsule za vitalnost las	titanov dioksid	E 171	1
Das gesunde PLUS	Kalcij, šumeče tablete	riboflavin	E 101(i)	1
Das gesunde PLUS	Magnezij + kalcij + D3, tablete	titanov dioksid	E 171	1
Das gesunde PLUS	Železo + vitamin C, šumeče tablete	riboflavin	E 101(i)	1
Das gesunde PLUS	Magnezij 400 mg, šumeče tablete	riboflavin	E 101(i)	1
Das gesunde PLUS	Vitamin C, šumeče tablete	riboflavin	E 101(i)	1
Das gesunde PLUS	A do Ž depo preparat, tablete	titanov dioksid, železovi oksidi in hidroksidi	E 171, E 172	2
Das gesunde PLUS	A do Ž mama, tablete	titanov dioksid	E 171	1

Das gesunde PLUS	Männer Aktiv Komplex, kapsule	železovi oksidi in hidroksidi, titanov dioksid	E 172, E 171	2
Diasporal	Magnezij 300, granule	riboflavin-5'-fosfat	E 101(ii)	1
Diasporal	Magnezij 400 Extra Direkt, orodisperzibilne granule	železov oksid	E 172	1
Diasporal	Magnezij 400 Extra, granule	riboflavin, rdeča pesa	E 101(i), E 162	2
Doppelherz aktiv	Augen Extra kapsule dan + noč	železovi oksidi in hidroksidi	E 172	1
Doppelherz aktiv	Magnezij 400 mg + B1 + B6 + B12 + folna kislina, tablete	titanov dioksid	E 171	1
Doppelherz aktiv	Silicijeva prst + biotin + cink, tablete	titanov dioksid	E 171	1
Doppelherz aktiv	Vitamin B12, tablete	titanov dioksid	E 171	1
Doppelherz aktiv	Magnezij + kalij Sport, šumeče tablete	riboflavin-5'-fosfat	E 101(ii)	1
Doppelherz aktiv	Diabetiker vitamini in meinerali, tablete	titanov dioksid, železov oksid	E 171, E 172	2
Dr. Böhm	Tablete za kožo, lase in nohte	titanov dioksid, železovi oksidi	E 171, E 172	2
Ducray	Anacaps tri-aktiv, kapsule	železov oksid, titanov dioksid	E 172, E 171	2
Encian	Multi 24, tablete	titanov dioksid, železov oksid	E 171, E 172	2
Fidimed	FidiMag 300 plus C, šumeče tablete	riboflavin	E 101(i)	1
Fidimed	FidiVit Multi z resveratrolom, tablete	titanov dioksid, rumeni železov oksid	E 171, E 172	2
Fidimed	FiviVit B retard, obložene tablete	titanov dioksid	E 171	1
fit+Vital	Vitamin C	riboflavin	E 101(i)	1
fit+Vital	Kalcij + D3, šumeče tablete	riboflavin-5'-fosfat	E 101(ii)	1
fit+Vital	Multivitamin, šumeče tablete	sok rdeče pese v prahu	E 162	1
fit+Vital	Magnezij, šumeče tablete	riboflavin-5'-fosfat	E 101(ii)	1
fit+Vital	Multivitamin + mineral, šumeče tablete	sok rdeče pese v prahu	E 162	1
fit+Vital	Železo, tablete	titanov dioksid, železovi oksidi in hidroksidi	E 171, E 172	2
fit+Vital	Kalcij + D3, tablete	titanov dioksid	E 171	1

fit+Vital	Magnezij + kalcij + D3, tablete	titanov dioksid	E 171	1
fit+Vital	Cink + vitamin C, tablete za lizanje	riboflavin	E 101(i)	1
fit+Vital	Multivitamin A-Z, tablete	titanov dioksid, železovi oksidi in hidroksidi	E 171, E 172	2
fit+Vital	Multivitamin A-Z 50+, tablete	titanov dioksid, železovi oksidi in hidroksidi	E 171, E 172	2
fit+Vital	Carotin, kapsule	železov oksid in hidroksid	E 172	1
fit+Vital	Haut und Haare, kapsule	titanov dioksid	E 171	1
fit+Vital	Kapsule za oči	titanov dioksid	E 171	1
Fitoval	Kapsule proti izpadanju las	titanov dioksid, črni železov oksid, rdeči železov oksid	E 171, E 172	2
Forvita	B-kompleks, tablete	črni železov oksid, rdeči železov oksid, titanov dioksid, rumeni železov oksid	E 172, E 171	2
Forvita	Anti-stress, tablete	titanov dioksid	E 171	1
Jamieson	Vita-Vim 50+, tablete	kurkuma, titanov dioksid	E 100, E 171	2
Jamieson	Vita-Vim Regular, tablete	kurkuma, titanov dioksid	E 100, E 171	2
Jamieson	Vita-Vim za ženske, kapsule	kurkuma, titanov dioksid	E 100, E 171	2
Jamieson	Stressease, tablete	titanov dioksid	E 171	1
Jamieson	Vita-Vim za otroke, želejčki	korenčkov sok, anato	E 160a(i), E 160b	2
Jamieson	Vita-Vim za otroke, bonboni	korenčkov sok, anato	E 160a(i), E 160b	2
Jamieson	Vita-Vim za otroke z dodanim kalcijem in vitaminom C, bonboni	karmin	E 120	1
Jamieson	Vitamin D3 za otroke, bonboni	karmin	E 120	1
Jamieson	Kalcij, Magnezij in Cink, tablete	titanov dioksid	E 171	1
Jamieson	Mega Kalcij + Vitamin D3, tablete	titanov dioksid	E 171	1
Jamieson	Kalcij, Magnezij in Vitamin D3, tablete	titanov dioksid	E 171	1
Jamieson	Magnezij 250 mg, tablete	titanov dioksid	E 171	1
Kneipp	Kalcij, magnezij + vitamin D3, šumeče tablete	riboflavin-5'-fosfat	E 101(ii)	1

Kneipp	Kalcij, magnezij + vitamin D3, šumeče tablete	beta karoten	E 160a(ii)	1
Kneipp	Spomin + koncentracija, kapsule	titanov dioksid	E 171	1
Krüger	Day by Day Kalcij + vitamin D s sladilom stevia, šumeče tablete	riboflavin-5'-fosfat	E 101(ii)	1
Krüger	Day by Day Multi-Vitamin, šumeče tablete	sok rdeče pese v prahu	E 162	1
Krüger	Day by Day 10 Multi-vitaminov + 5 Multi-mineralov, šumeče tablete	sok rdeče pese v prahu	E 162	1
Krüger	Day by Day Kalcij 500 mg, šumeče tablete	riboflavin-5'-fosfat	E 101(ii)	1
Krüger	Day by Day Magnezij 200 mg, šumeče tablete	riboflavin-5'-fosfat	E 101(ii)	1
Krüger	Day by Day Magnezij s sladilom stevia, šumeče tablete	riboflavin-5'-fosfat	E 101(ii)	1
Krüger	Day by Day Vitamin C 180 mg, šumeče tablete	riboflavin-5'-fosfat	E 101(ii)	1
Krüger	Day by Day Vitamin C s sladilom stevia, šumeče tablete	riboflavin-5'-fosfat	E 101(ii)	1
Krüger	Day by Day Železo + folat + vitamin C + vitamin B12, šumeče tablete	riboflavin-5'-fosfat	E 101(ii)	1
Natural Wealth	Kalcijev citrat z vitaminom D, šumeče tablete	riboflavin-5'-fosfat	E 101(ii)	1
Nutrilab	Vitamini + minerali + omega3, kapsule	modro V	E 131	1
Ocuvite	Lutein forte, tablete	rumeni železov oksid, oranžno FCF, rdeče 4R	E 172, E 110, E 124	3
Optisana	Kalcij + D3, šumeče tablete	riboflavin-5'-fosfat	E 101(ii)	1
Optisana	Magnezij, šumeče tablete	riboflavin-5'-fosfat	E 101(ii)	1
Optisana	Vitamin C, šumeče tablete	riboflavin-5'-fosfat	E 101(ii)	1
Schnnekoppe	Magnezij, šumeče tablete	riboflavin-5'-fosfat	E 101(ii)	1
Schnnekoppe	Kalcij, šumeče tablete	riboflavin-5'-fosfat	E 101(ii)	1
Schnnekoppe	Vitamin C, šumeče tablete	riboflavin-5'-fosfat	E 101(ii)	1

Sensilab	Vitameni & Minerali, šumeče tablete	beta karoten	E 160a(ii)	1
Sensilab	Vitameni & Minerali, tablete	titanov dioksid, železov oksid	E 171, E 172	2
Sensilab	Magnezij 300mg, šumeče tablete	rdeče barvilo rdeče pese, riboflavin	E 162, E 101(i)	2
Sensilab	Power C 1000 mg, šumeče tablete	beta karoten	E 160a(ii)	1
Sensilab	Kalcij + Magnezij + D3, šumeče tablete	beta karoten	E 160a(ii)	1
Sensilab	Vitamin C, šumeče tablete	riboflavin	E 101(i)	1
Solgar	Kalcij, magnezij + cink, tablete	titanov dioksid	E 171	1
Solgar	Magnezijev citrat, tablete	titanov dioksid	E 171	1
Solgar	Kalcijev citrat + vitamin D, tablete	titanov dioksid	E 171	1
Solgar	Vitamin C, žvečljive tablete z okusom brusnice in maline	rdeča pesa	E 162	1
Solgar	Vitamin C, žvečljive tablete z okusom pomaranče	anato	E 160b	1
Spar	Vitamin C, šumeče tablete	riboflavin	E 101(i)	1
Spar	Magnezij, šumeče tablete	riboflavin, rastlinski koncentrat za obarvanje (rdeča pesa)	E 101(i), E 162	2
Supradyn	Fast Energija, prašek	železov oksid	E 172	1
Supradyn	Energija Q10, filmsko obložene tablete	titanov dioksid, rumeni železov oksid	E 171, E 172	2
Supradyn	Vital 50+, filmsko obložene tablete	titanov dioksid, bakrov klorofilin	E 171, E 140(ii)	2
Supradyn	Junior, žvečljive tablete	rumeni železov oksid	E 172	1
Supradyn	Energija Q10, šumeče tablete	sok rdeče pese	E 162	1
Taxofit	Magnezij, dražeji	titanov dioksid	E 171	1
Tetesept	Magnezij 400, tablete	titanov dioksid	E 171	1
Valens	Quvital Q10, kapsule	titanov dioksid	E 171	1
Well&active	Vitamin C + železo + cink, šumeče tablete	riboflavin	E 101(i)	1
Spar	Železo + vitamin C, šumeče tablete	riboflavin, rastlinski koncentri za obarvanje (rdeča pesa, črno korenje)	E 101(i), E 162	2

Das gesunde PLUS	Vitamin D3 za otroke, žvečljive tablete	riboflavin	E 101(i)	1
Natural Wealth	Magnezij 375 mg + vitamini B1, B6 in C, šumeče tablete	prah rdeče pese, beta karoten	E 162, E 160a(ii)	2

Priloga 4: Seznam pregledanih zdravil brez recepta z barvili

Proizvajalec	Ime zdravila	Splošno ime barvila	E-število barvila	Σ barvil
Bayer	Elevit Pronatal, filmsko obložene tablete	titanov dioksid, rumeni železov oksid	E 171, E 172	2
Krka	B-complex, obložene tablete	kalcijev karbonat, rjavi železov oksid, črno PN, oranžno FCF, tartrazin	E 170, E 172, E 151, E 110, E 102	5
Krka	CalciumvitaC, šumeče tablete	rdeče 4R	E 124	1
Krka	Pikovit forte 7+, obložene tablete	titanov dioksid, beta karoten	E 171, E 160a(ii)	2
Krka	Pikovit 4+, obložene tablete	titanov dioksid, rdeče 4R, oranžno FCF, kinolinsko rumeno, indigotin	E 171, E 124, E 110, E 104, E 132	5
Krka	Magnesol, šumeče tablete	oranžno FCF	E 110	1
Wörwag Pharma	Milgamma, obložene tablete	kalcijev karbonat, titanov dioksid	E 170, E 171	2
Krka	Pikovit, sirup	rdeče 4R	E 124	1

Priloga 5: Seznam pregledanih prehranskih dopolnil brez barvil

Blagovna znamka	Ime prehranskega dopolnila
A. Vogel	Kelp – jod, tablete
Abtei	Immun Kraft, tekočina
Ars Pharmae	Acerola vitamin C, tablete
Better You	MultiVit Complete, ustno pršilo
Better You	DLux Pregnancy - vitamin D3 za nosečnice in doječe matere, ustno pršilo
Better You	DLux 400 vitamin D3 za dojenčke in otroke, ustno pršilo
Better You	DLux 3000 - vitamin D3, ustno pršilo
Better You	Boost - vitamin B12, ustno pršilo
Better You	DLux 1000 - vitamin D3, ustno pršilo
Bimbi	Vitamix, sirup
Bimbi	Ferro C, sirup
Biolabor	Vsi vitamini, žvečljive tablete
Biolabor	Acerola C, tablete za lizanje
Biolabor	Magnezij, žvečljive tablete
Das gesunde PLUS	Vitamin C v prahu
Das gesunde PLUS	Magnezij + vitamin C + B6 + B12, tablete za lizanje
Das gesunde PLUS	Selen, mini tablete
Das gesunde PLUS	Kalcij + D3, tablete
Das gesunde PLUS	Magnezij, tablete
Das gesunde PLUS	Sirup z železom, vitamini B-kompleksa, vitaminom C in cinkom
Doppelherz aktiv	Železo-Femin Direkt + vitamin C + B6 + B12 + folna kislina, mikro-pelete v vrečicah
Doppelherz aktiv	Odpornost Aktiv Direkt, mikro-pelete v vrečicah
Dr. Ritter	Vitamini B-kompleks, kapsule
fit+Vital	Magnezij + vitamin C, tablete za lizanje
fit+Vital	Magnezij, tablete
fit+Vital	Vitamin C, prašek
fit+Vital	Multivitamin + kalcij, tablete za lizanje
fit+Vital	Magnezij, prašek v vrečicah
Hafesan	Magnezij + vitamin E, kapsule
Hafesan	Železo + Baker + Vitamin C, kapsule
Hafesan	Magnezij + Kalij + Vitamin E, kapsule
Hafesan	Vitamin B + folna kislina + biotin, kapsule

Jamieson	Pastile s cinkom, ehinacejo ter vitaminoma C in D
Jamieson	Silicij, tablete
Jamieson	Prenatal vitamini in minerali, tablete
Jamieson	Baby-D 400 IE, kapljice
Jamieson	Kalcij+D3, čokoladice
Jamieson	Vitamin A&D Premium, kapsule
Jamieson	B-kompleks 100, tablete
Jamieson	Vitamin B12, tablete
Jamieson	Folna kislina, tablete
Jamieson	Vitamin C 500 mg, bonboni z okusom pomaranče
Jamieson	Vitamin C 500 mg, tablete s podaljšanim sproščanjem
Jamieson	Vitamin C 1000 mg, tablete s podaljšanim sproščanjem
Jamieson	Vitamin D 400 IE, tablete
Jamieson	Vitamin E 200 IE, kapsule
Jamieson	Selen 100 mcg, tablete
Jamieson	Selen 50 mcg, tablete
Jamieson	Cink 10 mg, tablete
Jamieson	Železo 50 mg, tablete s podaljšanim sproščanjem
Jamieson	Kelp – jod, tablete
Krüger	Day by Day Mega Sport, prašek v vrečicah
Lanes Health	B-kompleks, kapsule
Medex	Multivitamin junior, sirup
Natural Wealth	Železo z vitaminom C, folno kislino in vitaminom B12, kapsule
Natural Wealth	ABC plus, šumeče tablete
Natural Wealth	ABC junior, žvečljive tablete
Natural Wealth	ABC plus, tablete
Natural Wealth	Beta karoten, kapsule
Natural Wealth	B-kompleks vitamini, tablete
Natural Wealth	Vitamin C 500 mg, tablete s postopnim sproščanjem
Natural Wealth	Vitamin D-400 IE, tablete
Now	Kalcijev citrat, tablete
Now	Kelp – jod, tablete
Now	Koralni kalcij plus, kapsule
Now	Koralni kalcij v prahu
Now	Magnezijev citrat, tablete
Now	MultiOne tablete
Now	MultiOne tablete

Now	Vitamin B12, tablete
Now	Vitamin C, tablete
Now	Vitamin D-3, kapsule
Now	Vitamin E, kapsule
Now	Železo kompleks, tablete
Nutrilab	Železo z acerolo, kapsule
Nutrilab	B-kompleks, kapsule
Nutrilab	Cink, kapsule
Nutrilab	Selen, kapsule
Nutrilab	Duo magnesium, kapsule
Nutrilab	Vitamin B12, kapsule
Nutrilab	Ester-C, tablete
Optisana	Multivitamin, šumeče tablete
Pukka	Naravni vitamin C, kapsule
Rotbäckchen	Mama železo plus, sirup
Sallant	Magnezijev klorid, granule
Samostol	Multivitaminski sirup
Sensilab	ALL in a DAY Kalcij + vitamin D, kapsule
Sensilab	ALL in a DAY Vitamin C, kapsule
Sensilab	ALL in a DAY Magnezij, kapsule
Solgar	Biotin, tablete
Solgar	Beta karoten, kapsule
Solgar	Vitamin D3, kapsule
Solgar	Vitamin E, kapsule
Solgar	Cink Kelat, tablete
Solgar	Selen, tablete
Solgar	Folacin, tablete
Spar	Multivitamin, šumeče tablete
Terranova	Vitaminski B-kompleks z vitaminom C, kapsule
Terranova	Magnezij kalcij kompleks, kapsule
Terranova	Kalcij magnezij kompleks, kapsule
Terranova	Železo, kapsule
Terranova	Vitamin C, kapsule
Terranova	Multinutrienti, kapsule
Terranova	Prenatalni multivitaminski kompleks, kapsule
Terranova	Cink, kapsule
Terranova	Krom, kapsule
Terranova	Vitamin B12, kapsule

Terranova	Lepotni kompleks koža - lasje - nohti, kapsule
Terranova	Vitamin D3, kapsule
Valens	Imunofit Junior, sirup
Valens	Vitamin D, ustno pršilo
Vivan	Koralni kalcij, prah
Walmark	Vitamin C, tablete
Walmark	Marsovci 1+, sirup
Well&active	Multivitamin + mineral, šumeče tablete

Priloga 6: Seznam pregledanih zdravil brez recepta brez barvil

Proizvajalec	Ime zdravila
Novartis	Ca-C Calvive, šumeče tablete
Lekarna Ljubljana	Panthol, tablete
Pliva	Plivit C, tablete
Novartis	Calcium Calvive, šumeče tablete

Priloga 7: Frekvenca vitaminskih in mineralnih pripravkov z barvili in njihov delež glede na posamezno barvilo

Splošno ime barvila	E-število barvila	Število pripravkov	Delež pripravkov (%)
titanov dioksid	E 171	52	43,3
železovi oksidi in hidroksidi	E 172	27	22,5
riboflavin-5'-fosfat	E 101(ii)	19	15,8
riboflavin	E 101(i)	17	14,2
betanin	E 162	12	10,0
beta karoten	E 160a(ii)	6	5,0
oranžno FCF	E 110	4	3,3
rdeče 4R	E 124	4	3,3
kurkumin	E 100	3	2,5
anato	E 160b	3	2,5
karmini	E 120	2	1,7
indigotin	E 132	2	1,7
mešanice karotenov	E 160a(i)	2	1,7
kalcijev karbonat	E 170	2	1,7
tartrazin	E 102	1	0,8
kinolinsko rumeno	E 104	1	0,8
modro V	E 131	1	0,8
modro FCF	E 133	1	0,8
klorofilini	E 140(ii)	1	0,8
črno PN	E 151	1	0,8
rastlinsko oglje	E 153	1	0,8