



ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ΜΕ ΘΕΜΑ:
«Τοξικότητα προσθέτων τροφίμων»

DEGREE THESIS ON THE SUBJECT:
«Toxicity of food additives»



ΟΝΟΜΑ ΦΟΙΤΗΤΗ:

Πτήνης Δημήτρης/Ptinis Dimitris (71614381)

ΟΝΟΜΑ ΕΙΣΗΓΗΤΗ:

Χούγουλα Δήμητρα/Houhoula Dimitra

Έγινε δεκτή

Οι υπογράφοντες δηλώνουμε ότι έχουμε εξετάσει τη πτυχιακή εργασία με τίτλο **«Τοξικότητα προσθέτων τροφίμων»** που παρουσιάστηκε από τον φοιτητή **Δημήτρη Πτήνη** με αριθμό μητρώου **71614381** και βεβαιώνουμε ότι γίνεται δεκτή.

Ημερομηνία & Όνομα επιβλέποντος:

Ημερομηνία & Όνομα μέλους επιτροπής:

Ημερομηνία & Όνομα μέλους επιτροπής:

ΔΗΛΩΣΗ ΣΥΓΓΡΑΦΕΩΝ ΠΤΥΧΙΑΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ ΠΕΡΙ ΛΟΓΟΚΛΟΠΗΣ/ COPYRIGHT

Ο κάτωθι υπογεγραμμένος Δημήτρης Πτήνης, με αριθμό μητρώου **71614381** φοιτητής του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής της Σχολής Επιστημών Τροφίμων του Τμήματος Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων, δηλώνω υπεύθυνα ότι:

«Είμαι συγγραφέας αυτής της πτυχιακής εργασίας και ότι κάθε βοήθεια την οποία είχα για την προετοιμασία της είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται στην εργασία. Επίσης, οι όποιες πηγές από τις οποίες έκανα χρήση δεδομένων, ιδεών ή λέξεων, είτε ακριβώς είτε παραφρασμένες, αναφέρονται στο σύνολό τους, με πλήρη αναφορά στους συγγραφείς, τον εκδοτικό οίκο ή το περιοδικό, συμπεριλαμβανομένων και των πηγών που ενδεχομένως χρησιμοποιήθηκαν από το διαδίκτυο. Επίσης, βεβαιώνω ότι αυτή η εργασία έχει συγγραφεί από εμένα αποκλειστικά και αποτελεί προϊόν πνευματικής ιδιοκτησίας τόσο δικής μου, όσο και του Ιδρύματος.

Παράβαση της ανωτέρω ακαδημαϊκής μου ευθύνης αποτελεί ουσιώδη λόγο για την ανάκληση του πτυχίου μου».

Υπογραφή φοιτητή:

The image shows a handwritten signature in black ink. The signature consists of the letters 'D', 'P', and 'Ptenis' written in a cursive, flowing style. The 'D' and 'P' are large and connected, while 'Ptenis' is written in a smaller, more regular script to the right.

Ευχαριστίες

Η παρούσα πτυχιακή εργασία πραγματοποιήθηκε στο Τμήμα Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων, της σχολής Επιστημών Τροφίμων του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την επιβλέπουσα αναπληρώτρια καθηγήτρια, κυρία Χούχουλα Δήμητρα, κυρίως για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε, και την υπομονή που έκανε κατά τη διάρκεια υλοποίησης της πτυχιακής εργασίας. Όπως επίσης και για την πολύτιμη βοήθεια και καθοδήγηση της αλλά και τις διορθώσεις της.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά, την οικογένεια μου, η οποία φροντίζει πάντα για την καλύτερη δυνατή μόρφωσή μου αλλά και τους φίλους μου, για την συμπαράσταση και την ψυχολογική στήριξη τους σε όλη την διάρκεια της φοίτησης μου στην σχολή αλλά και κατά την συγγραφή της συγκεκριμένης πτυχιακής εργασίας.

Περίληψη

Διαφορετικοί τύποι πρόσθετων προστίθενται στα τρόφιμα για να επιτευχθούν τα επιθυμητά χαρακτηριστικά όπως η γεύση, η συντήρηση και η γλυκύτητα. Οι Διεθνείς Διασκέψεις για την Εναρμόνιση, ο Οργανισμός Οικονομικής Συνεργασίας και Ανάπτυξης, η Ευρωπαϊκή Αρχή για την Ασφάλεια των Τροφίμων και η Υπηρεσία Τροφίμων και Φαρμάκων των ΗΠΑ εκδίδουν κατευθυντήριες γραμμές για τους κανόνες και τους κανονισμούς της ασφαλούς χρήσης και δημοσιεύουν επίσης καταλόγους με εγκεκριμένα πρόσθετα τροφίμων. Τα πρόσθετα τροφίμων ελέγχονται ειδικά για κυτταροτοξικότητα, γονοτοξικότητα, μεταλλαξιγένεση και ηπατοτοξικότητα με διάφορες μεθόδους. Οι μελέτες ασφάλειας προσθέτων τροφίμων πραγματοποιούνται με κυτταρογενετική αξιολόγηση στην οποία πραγματοποιούνται δοκιμασίες γονιδιακής μετάλλαξης, μακροχρόνιες δοκιμές καρκινογένεσης, αναπαραγωγικές και αναπτυξιακές τοξικολογικές δοκιμές, υπερκινητικότητα, άγχος και κατάθλιψη. Οι περιορισμοί αυτών των μελετών είναι ακατάλληλη *in vivo* δοκιμασία παρακολούθησης και ειδικότητα των υποκειμένων. Επιπλέον, η κύρια πρόκληση είναι ότι δεν υπάρχουν ενιαίες κατευθυντήριες γραμμές για την κατάσταση αυτών των πρακτόρων στις διάφορες περιοχές ή παγκοσμίως. Οι διατροφικοί παράγοντες επηρεάζουν ουσιαστικά τη δομή και τη λειτουργία της κοινότητας του μικροβιώματος του ανθρώπινου εντέρου. Αν και πολλά διατροφικά συστατικά, όπως υδατάνθρακες, λίπη, πρωτεΐνες και φυτοχημικά, έχουν διερευνηθεί εκτενώς για την επίδρασή τους στη μικροχλωρίδα του εντέρου, λίγη προσοχή έχει δοθεί στις επιδράσεις διαφόρων προσθέτων τροφίμων στη μικροχλωρίδα του εντέρου. Μελέτες *in vitro* (όπως το μοντέλο M-Shime), ζωικά μοντέλα (όπως ποντίκια, αρουραίοι, χοίροι και πίθηκοι) και κλινικές δοκιμές σε ανθρώπους δείχνουν ότι διαφορετικοί τύποι προσθέτων τροφίμων θα μπορούσαν να τροποποιήσουν τη μικροχλωρίδα του εντέρου και την κατάσταση της υγείας. Διάφορα μοντέλα έχουν τα δικά τους πλεονεκτήματα και περιορισμούς, επομένως χρειάζεται προσοχή κατά την ερμηνεία των δεδομένων. Λαμβάνοντας υπόψη την πανταχού παρούσα χρήση προσθέτων τροφίμων σε επεξεργασμένα τρόφιμα, η μακροπρόθεσμη επίδραση των προσθέτων τροφίμων στη μικροχλωρίδα του εντέρου πρέπει να εξεταστεί σε μελλοντική έρευνα. Επιπλέον, εάν οι αλλαγές συγκεκριμένων μικροβιακών ειδών που προκαλούνται από πρόσθετα τροφίμων θα μπορούσαν να οδηγήσουν σε αντίστοιχες αλλαγές στις μεταβολικές και ανοσοποιητικές λειτουργίες πρέπει να διευκρινιστεί περαιτέρω.

Abstract

Different types of additives are added to foods to achieve desired characteristics such as taste, preservation and sweetness. The International Conferences on Harmonization, the Organization for Economic Co-operation and Development, the European Food Safety Authority and the US Food and Drug Administration issue guidelines on rules and regulations for safe use and also publish lists of approved food additives. Food additives are specifically tested for cytotoxicity, genotoxicity, mutagenicity and hepatotoxicity by various methods. Food additive safety studies are performed by cytogenetic evaluation in which gene mutation tests, long-term carcinogenicity tests, reproductive and developmental toxicology tests, hyperactivity, anxiety and depression are performed. Limitations of these studies are inadequate in vivo follow-up assay and subject specificity. Furthermore, the main challenge is that there are no uniform guidelines for the status of these agents in different regions or worldwide. Dietary factors substantially influence the structure and function of the human gut microbiome community. Although many dietary components, such as carbohydrates, fats, proteins, and phytochemicals, have been extensively investigated for their effect on the gut microbiota, little attention has been paid to the effects of various food additives on the gut microbiota. In vitro studies (such as the M-Shime model), animal models (such as mice, rats, pigs and monkeys) and human clinical trials show that different types of food additives could modify gut microbiota and health status. Various models have their own strengths and limitations, so care should be taken when interpreting the data. Considering the ubiquitous use of food additives in processed foods, the long-term effect of food additives on the gut microbiota needs to be examined in future research. Furthermore, whether changes of specific microbial species induced by food additives could lead to corresponding changes in metabolic and immune functions needs to be further elucidated.

Περιεχόμενα

ΔΗΛΩΣΗ ΣΥΓΓΡΑΦΕΩΝ ΠΤΥΧΙΑΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ ΠΕΡΙ ΛΟΓΟΚΛΟΠΗΣ/ COPYRIGHT.....	3
Ευχαριστίες.....	4
Περίληψη.....	5
Abstract	6
Περιεχόμενα	7
Κεφάλαιο 1: Εισαγωγή	10
Κεφάλαιο 2: Ιστορική Αναδρομή	15
2.1 ΙΣΤΟΡΙΚΑ ΣΗΜΕΙΑ ΑΝΑΦΟΡΑΣ ΤΗΣ EFSA	15
2.1.2 2016.....	15
2.1.3 2014.....	15
2.1.4 2013.....	15
2.1.5 2012.....	15
2.1.6 2009.....	16
2.1.7 2008.....	16
2.2 Ιστορική ανασκόπηση.....	16
2.3 Πρόσθετα και παιδικές τροφές	17
2.4 Βασικοί ορισμοί και ορολογία.....	17
2.5 Τοξικότητα των προσθέτων τροφίμων	21
2.5.1 Χρωστικές ουσίες.....	21
2.5.2 Αντιοξειδωτικά.....	22
2.5.3 Γλυκαντικές ουσίες	23
2.5.4 Συντηρητικά.....	24
Αρωματικοί παράγοντες.....	25
2.5.5 Γαλακτωματοποιητές	26
2.5.6 Ρυθμιστές οξύτητας	27
2.5.7 Αφριστικοί παράγοντες.....	27

2.5.8	Πηκτωματογόνοι παράγοντες	27
2.5.9	Υγροσκοπικοί παράγοντες.....	28
2.5.10	Πρωστικές ύλες.....	28
2.6	Μεθοδολογία για τον προσδιορισμό της τοξικότητας των προσθέτων.....	30
2.6.1	<i>In-vitro</i> δοκιμές γενετικής τοξικότητας	30
	<i>In-vivo</i> δοκιμές γενετικής τοξικότητας	34
2.6.13	Αναγκη βελτίωσης στη μελετη τοξικοτητας	39
2.6.14	Νεες τεχνολογιες στις μελετες τοξικοτητας	40
2.6.15	Υποβολή στοιχείων για έγκριση προσθέτων τροφίμων.....	41
Κεφάλαιο 3:	Ανάλυση Επικινδυνότητας.....	42
3.1	Συνοπτική επισκόπηση της βιβλιογραφίας	43
3.2	Πραγματικοί Κίνδυνοι.....	44
3.3	Αντιληπτοί κίνδυνοι.....	48
3.4	Ωφέλη	51
3.5	Η αντιμετώπιση των προσθέτων από το καταναλωτικό κοινό	52
Κεφάλαιο 4:	Μελλοντικές βλέψεις και υγεία.....	55
4.1	Διοξείδιο του τιτανίου	55
	57
4.2	Τεχνητά γλυκαντικά.....	57
4.2.1	Ακεσουλφαμικό κάλιο.....	57
4.2.2	Ασπαρτάμη	59
4.2.3	Σακχαρίνη	60
4.2.4	Σουκραλόζη.....	62
4.2.5	Κυκλαμικό.....	63
4.2.6	Νεοτάμη	64
4.3	Γαλακτωματοποιητές.....	66
4.3.1	Καρβοξυμεθυλοκυτταρίνη	66
	69

4.3.2	Πολυσορβικό 80.....	69
4.4	Συντηρητικά.....	72
4.4.1	Θειικά.....	73
4.4.2	Βενζοϊκό νάτριο, σορβικό κάλιο και νιτρώδες νάτριο	74
4.4.3	Νισίνη.....	75
4.5	Άλλα πρόσθετα τροφίμων	76
4.5.1	Αρωματικοί παράγοντες: Αιθέρια έλαια.....	76
4.6	Ρυθμιστές οξύτητας.....	78
4.7	Μελλοντικές βλέψεις.....	79
Κεφάλαιο 5:	Συμπεράσματα και υποδείξεις για περαιτέρω έρευνα.....	82
Κεφάλαιο 6:	Βιβλιογραφία.....	86

Κεφάλαιο 1: Εισαγωγή

Χιλιάδες πρόσθετα τροφίμων χρησιμοποιούνται σε τρόφιμα για να προσδώσουν διάφορες ιδιότητες κατά την επεξεργασία των τροφίμων. Ο Κανονισμός της Ευρωπαϊκής Ένωσης 1333/2008 όρισε τα πρόσθετα τροφίμων ως ουσίες που δεν προορίζονται για τρόφιμα μεμονωμένα αλλά προστίθενται για να μεταδώσουν τεχνολογικά χαρακτηριστικά όπως το χρώμα, η γεύση, η διατήρηση και η ρύθμιση της οξύτητας. Σύμφωνα με τη νομοθεσία της Ευρωπαϊκής Ένωσης, πρόσθετο τροφίμων είναι «κάθε ουσία που συνήθως δεν καταναλώνεται αυτή καθ' εαυτή ως τρόφιμο και δεν χρησιμοποιείται συνήθως ως χαρακτηριστικό συστατικό τροφίμων, είτε έχει θρεπτική αξία είτε όχι, και της οποίας η σκόπιμη προσθήκη στο τρόφιμο για ένα τεχνολογικό σκοπό κατά την παρασκευή, τη μεταποίηση, την προετοιμασία, την επεξεργασία, τη συσκευασία, τη μεταφορά ή την αποθήκευση αυτού του τροφίμου έχει ως αποτέλεσμα, ή αναμένεται εύλογα να έχει ως αποτέλεσμα, ότι η ουσία ή παράγωγα αυτής καθίστανται άμεσα ή έμμεσα συστατικό αυτών των τροφίμων».

Ορισμένα πρόσθετα λειτουργούν επίσης ως:

- πυκνωτικά (αυξάνουν το ιξώδες του τροφίμου)
- χρωστικές (προσθέτουν ή αποκαθιστούν το χρώμα ενός τροφίμου που έχει χαθεί κατά την επεξεργασία του)
- συντηρητικά (παρατείνουν το χρόνο διατήρησης των τροφίμων προστατεύοντάς τα από τις αλλοιώσεις που προκαλούνται από τους μικροοργανισμούς)
- αντιοξειδωτικά (παρατείνουν το χρόνο διατήρησης των τροφίμων προστατεύοντάς τα από τις αλλοιώσεις που προκαλούνται από την οξείδωση (όπως το τάγγισμα των λιπών και οι μεταβολές χρώματος)
- βελτιωτικά αλεύρων (προστίθενται στο αλεύρι ή στη ζύμη προκειμένου να βελτιώσουν την αρτοποιητική ικανότητά τους)
- σταθεροποιητές (επιτρέπουν τη διατήρηση της φυσικο-χημικής κατάστασης ενός τροφίμου, δηλαδή επιτρέπουν τη διατήρηση της ομοιογενούς διασποράς δύο ή περισσότερων μη μειγνυόμενων ουσιών σε ένα τρόφιμο. Περιλαμβάνουν επίσης ουσίες που σταθεροποιούν, συντηρούν ή εντείνουν το υπάρχον χρώμα ενός τροφίμου)

- γαλακτωματοποιητές ή αντισυσσωματοποιητές (επιτρέπουν το σχηματισμό ή τη διατήρηση ομοιογενούς μείγματος δύο ή περισσότερων μη μειγνυόμενων φάσεων, όπως το λάδι και το νερό, σε τρόφιμο)
- ενισχυτικά γεύσης (ενισχύουν την υπάρχουσα γεύση ή / και οσμή του τροφίμου)
- οξέα (αυξάνουν την οξύτητα των τροφίμων ή / και τους προσδίδουν όξινη γεύση)
- ρυθμιστές οξύτητας (μεταβάλλουν ή ελέγχουν την οξύτητα ή την αλκαλικότητα του τροφίμου)
- τροποποιημένα άμυλα (λαμβάνονται με μία ή περισσότερες χημικές επεξεργασίες βρώσιμων αμύλων, μπορεί να έχουν υποστεί φυσική ή ενζυματική επεξεργασία, και μπορούν να έχουν υποστεί όξινη ή αλκαλική αραίωση ή λεύκανση)
- γλυκαντικά (χρησιμοποιούνται για να προσδώσουν γλυκιά γεύση στα τρόφιμα ή ως επιτραπέζια γλυκαντικά. Η χρήση γλυκαντικών υλών αντί της ζάχαρης είναι δικαιολογημένη για την παραγωγή τροφίμων μειωμένων θερμίδων, τροφίμων που δεν προκαλούν τερηδόνα ή τροφίμων χωρίς προσθήκη ζάχαρης για την παράταση του χρόνου διατήρησης χάρις στην αντικατάσταση της ζάχαρης, καθώς και για την παραγωγή διαιτητικών προϊόντων)
- διογκωτικά αρτοποιίας (αυξάνουν τον όγκο της ζύμης ή του παναρίσματος ελευθερώνοντας αέριο)
- αντιαφριστικοί παράγοντες (προλαμβάνουν ή περιορίζουν το σχηματισμό αφρού)
- Αέρια συσκευασίας (τα αέρια, πλην του αέρα, τα οποία εισάγονται σε περιέκτη πριν, κατά ή μετά την τοποθέτηση τροφίμου στον εν λόγω περιέκτη) κ.α

Τα πρόσθετα ομαδοποιούνται σε κατηγορίες σύμφωνα με την κύρια λειτουργία τους. Ωστόσο η κατάταξη ενός πρόσθετου σε συγκεκριμένη κατηγορία δεν αποκλείει τη χρησιμοποίησή του και σε άλλες λειτουργίες. Σε κάθε πρόσθετο αντιστοιχεί ένας τριψήφιος ή τετραψήφιος αριθμός. Πριν από τον αριθμό υπάρχει η ένδειξη E που δηλώνει ότι έχει εγκριθεί η κυκλοφορία του στην Ευρωπαϊκή Ένωση. Χρησιμοποιώντας τον κωδικό αριθμό

δεν συγγέονται τα πρόσθετα που έχουν περισσότερα από ένα ονόματα, ή παρόμοια ονόματα. Επίσης εξοικονομείται χώρος κατά την επισήμανση του τροφίμου.

Η ασφάλεια των τροφίμων είναι σημαντική για την υγεία, τον έλεγχο των ασθενειών και την ποιότητα διαβίωσης και είναι κρίσιμη για την ασφαλέστερη ανάπτυξη τροφίμων. Οι κύριοι μολυντές των τροφίμων προέρχονται από ανθρωπογενείς ουσίες όπως φαρμακευτικά προϊόντα, υπολείμματα φυτοφαρμάκων, προϊόντα αντίδρασης Maillard και από οργανικούς ρύπους και βαρέα μέταλλα, μεταλλοειδή και μυκοτοξίνες που προέρχονται από φυσικές πηγές.

Η νομοθεσία για την ασφάλεια των τροφίμων ξεκινά με τη διαμόρφωση του Pure Food and Drugs Νόμος το 1906 στις Ηνωμένες Πολιτείες, και το 1938, εισήχθη ο νόμος για τα τρόφιμα, τα φάρμακα και τα καλλυντικά για να διασφαλίσει την ταυτότητα, την ποιότητα των συστατικών και το πρότυπο για τη συσκευασία των τελικών προϊόντα. Ο νόμος για την ασφάλεια των τροφίμων των ΗΠΑ του 1958 εισήχθη μαζί με το πρόσθετο τροφίμων Τροποποίηση το 1958. Δημιουργήθηκε για να παρέχει κανόνες και κανονισμούς για τα τρόφιμα των Η.Π.Α και του Οργανισμού Φαρμάκων (FDA). Το 1982, ο FDA όρισε τον Κανονισμό για την Ασφάλεια των Τροφίμων για τα πρόσθετα τροφίμων στο «Κόκκινο Βιβλίο» του FDA των ΗΠΑ (Parasuraman, 2011).

Η ασφάλεια των προσθέτων τροφίμων αξιολογείται από την EFSA. Σύμφωνα με την EFSA έχει συσταθεί μία ομάδα η οποία ασχολείται με τα πρόσθετα τα οποία προστίθενται στα τρόφιμα. Η ομάδα με θέμα τα πρόσθετα τροφίμων και τις αρωματικές ύλες (FAF) αξιολογεί την ασφάλεια των χημικών ουσιών που προστίθενται στα τρόφιμα και την έκθεση των καταναλωτών σε αυτά. Το έργο της ομάδας αφορά κυρίως ουσίες που αξιολογούνται από την EFSA πριν από την έγκριση της χρήσης τους στην ΕΕ.

Τα μέλη της ομάδας FAF είναι επιστημονικοί υπάλληλοι από όλη την Ευρώπη με εμπειρογνωσία στους ακόλουθους τομείς:

- Εκτίμηση επικινδυνότητας χημικών ουσιών και αξιολόγηση της ασφάλειας πρόσθετων τροφίμων και αρωματικών ουσιών
- Τοξικολογία (θηλαστικά): υποχρόνια και χρόνια τοξικότητα (μελέτες επαναλαμβανόμενων δόσεων), γονιδοτοξικότητα και μεταλλαξινέωση, αναπτυξιακή και αναπαραγωγική τοξικότητα, καρκινογένεση, δυναμικό πρόκλησης αλλεργίας και ανοσοτοξικότητα
- Δοκιμές τοξικότητας σε πειραματόζωα και εναλλακτικές δοκιμές τοξικότητας

- Τοξικοκινητική και τοξικοδυναμική (ADME - απορρόφηση, κατανομή, μεταβολισμός, απέκκριση) ουσιών
- Χημεία (οργανική, ανόργανη, αναλυτική και συνθετική χημεία), ιδίως για τον χημικό προσδιορισμό και τις ιδιότητες των χημικών ουσιών
- Αξιολόγηση της έκθεσης και έρευνες σχετικά με την κατανάλωση
- Τεχνολογία τροφίμων (διαδικασίες παραγωγής και χρήση πρόσθετων τροφίμων)

Για κάθε ουσία που πρέπει να εγκριθεί από την EFSA υποβάλλεται από τον παραγωγό της ένας φάκελος όπου περιέχονται όλες οι απαραίτητες πληροφορίες για την ουσία όπως τη χημική ταυτοποίηση του προσθέτου, την διαδικασία παρασκευής του, την αναλυτική μέθοδο, την αντίδραση, πως πρόκειται να χρησιμοποιηθεί στα τρόφιμα, την αναγκαιότητα και τα τοξικολογικά του στοιχεία.

Τα τοξικολογικά του στοιχεία είναι πολύ σημαντικά διότι περιλαμβάνουν πληροφορίες για τον μεταβολισμό της ουσίας και την χρόνια τοξικότητα, την ικανότητα καρκινογένεσης, την τοξικότητα για την αναπαραγωγή.

Βάσει όλων αυτών των στοιχείων η EFSA προσδιορίζει το ανώτατο επίπεδο πρόσληψης για το οποίο η συγκεκριμένη ουσία μπορεί να θεωρείται ασφαλής – τη λεγόμενη αποδεκτή ημερήσια πρόσληψη (ADI - Acceptable Daily Intake). Ταυτόχρονα, η EFSA αξιολογεί επίσης, βάσει των προτεινόμενων χρήσεων που έχουν ζητηθεί για τα διάφορα τρόφιμα, εάν υπάρχει πιθανότητα υπέρβασης αυτής της αποδεκτής ημερήσιας πρόσληψης (ADI).

Εάν δεν υπάρχει πιθανότητα υπέρβασης του ορίου της ADI, η χρήση του προσθέτου θεωρείται ασφαλής. Οι ADI συνήθως εκφράζονται σε mg ανά kg σωματικού βάρους ανά ημέρα (mg/kg σωματικού βάρους/ημέρα). Το ADI μπορεί να ισχύει για ένα συγκεκριμένο πρόσθετο ή μια ομάδα πρόσθετων με παρόμοιες ιδιότητες. Κατά την επαναξιολόγηση των προηγουμένως εγκεκριμένων πρόσθετων, η EFSA μπορεί είτε να επιβεβαιώσει είτε να τροποποιήσει μια υπάρχουσα ADI μετά από εξέταση όλων των διαθέσιμων στοιχείων. Όταν δεν υπάρχουν επαρκή δεδομένα για τον καθορισμό μιας ADI, μπορεί να υπολογιστεί ένα περιθώριο ασφάλειας για να καθοριστεί εάν η εκτιμώμενη έκθεση μπορεί να είναι δυνητική ανησυχία. Σε άλλες περιπτώσεις, για παράδειγμα, για ουσίες που υπάρχουν ήδη στο σώμα ή σε κανονικά συστατικά της δίαιτας ή που δεν έδειξαν ανεπιθύμητες ενέργειες σε μελέτες σε ζώα, δεν χρειάζεται να ορίσετε μια ADI.

Όταν η EFSA αξιολογεί την πιθανή έκθεση σ' ένα πρόσθετο τροφίμων, εξετάζει το ανώτατο επίπεδο που ζητείται να προστεθεί στα διάφορα τρόφιμα. Επιπλέον, η EFSA

θεωρεί ότι οι μεγαλύτερες ποσότητες των τροφίμων αυτών καταναλώνονται σε καθημερινή βάση. Μόνο όταν αυτή η εκτιμώμενη έκθεση μέσω των διαφορετικών τροφίμων παραμένει κάτω από το επίπεδο της αποδεκτής ημερήσιας πρόσληψης, η EFSA κρίνει ότι η προτεινόμενη χρήση μιας ουσίας είναι ασφαλής. Εάν υπάρχει υπέρβαση της αποδεκτής ημερήσιας πρόσληψης, η Επιτροπή μπορεί να αποφασίσει τον περιορισμό της χρήσης του προσθέτου ή την απόρριψη της έγκρισής του. Επομένως, η παρουσία προσθέτων τροφίμων πρέπει να θεωρείται ασφαλής, ακόμη και αν οι καταναλωτές τρώνε μεγάλες ποσότητες τροφίμων στα οποία έχουν χρησιμοποιηθεί πρόσθετα στο ανώτατο επιτρεπτό επίπεδο.

Ένα πρόσθετο τροφίμων μπορεί να εγκριθεί όταν:

- βάσει των διαθέσιμων επιστημονικών στοιχείων, δεν παρουσιάζει κίνδυνο για την υγεία των καταναλωτών, στο επίπεδο της προτεινόμενης χρήσης
- υφίσταται εύλογη τεχνολογική ανάγκη που δεν μπορεί να επιτευχθεί με άλλο μέσο και
- η χρήση του δεν παραπλανά αλλά προσφέρει οφέλη στον καταναλωτή.

Κεφάλαιο 2: Ιστορική Αναδρομή

2.1 ΙΣΤΟΡΙΚΑ ΣΗΜΕΙΑ ΑΝΑΦΟΡΑΣ ΤΗΣ EFSA

2.1.1 2017

Ενημέρωση του προτύπου «Μοντέλο πρόσληψης προσθέτων τροφίμων» (FAIM) της EFSA. Αυτό είναι ένα εργαλείο αξιολόγησης έκθεσης που αναπτύχθηκε ειδικά από την EFSA για να υποστηρίξει τον υπολογισμό από τους αιτούντες των εκτιμήσεων της έκθεσης στο πρόσθετο τροφίμων και στα παραπροϊόντα του. Η χρήση του εργαλείου αποσκοπεί επίσης στην εναρμόνιση της υποβολής των σχετικών δεδομένων.

2.1.2 2016

Ολοκληρώθηκαν οι δύο τελευταίες επαναξιολογήσεις των χρωμάτων τροφίμων ολοκληρώνοντας αυτό το μεγάλο πρόγραμμα. Συνολικά, η επιτροπή ANS αξιολόγησε εκ νέου 41 χρώματα τροφίμων.

2.1.3 2014

Η επιτροπή ενέκρινε δήλωση σχετικά με το εννοιολογικό πλαίσιο για τις αξιολογήσεις κινδύνου για ορισμένα πρόσθετα τροφίμων που περιλαμβάνονται στο πρόγραμμα επαναξιολόγησης.

2.1.4 2013

Η επαναξιολόγηση του γλυκαντικού ασπαρτάμη υποβλήθηκε και ολοκληρώθηκε μετά από αίτημα της Ευρωπαϊκής Επιτροπής.

2.1.5 2012

Η επιτροπή ANS ενέκρινε οδηγίες για την υποβολή αιτήσεων για πρόσθετα τροφίμων, αντικατοπτρίζοντας την πρόοδο της επιστήμης και τις πιο πρόσφατες αρχές αξιολόγησης κινδύνου. Αντικατέστησε τις οδηγίες από το 2001 από την πρώην Επιστημονική Επιτροπή Τροφίμων (SCF) της Ευρωπαϊκής Επιτροπής και αργότερα εγκρίθηκε από τα πάνελ της EFSA για χρήση στις αξιολογήσεις κινδύνου τους.

2.1.6 2009

Σύμφωνα με τον κανονισμό EC 1331/2008, η επιτροπή ANS προσδιόρισε τον τύπο των δεδομένων που πρέπει να παρέχει η βιομηχανία για την αξιολόγηση της ασφάλειας των προσθέτων τροφίμων.

2.1.7 2008

Η EFSA δημιούργησε την ομάδα για τα πρόσθετα τροφίμων και τις θρεπτικές πηγές που προστίθενται στα τρόφιμα (ANS).

2.2 Ιστορική ανασκόπηση

Περίπου 2500 ουσίες προστίθενται στην επεξεργασία τροφίμων για να προσδώσουν ή να τροποποιήσουν διάφορες ιδιότητες. Ο νόμος για τα τρόφιμα και τα φάρμακα του 1906 ορίστηκε για τον έλεγχο της νοθείας στα τρόφιμα με τη βοήθεια του Υπουργείου Γεωργίας των Η.Π.Α. Μέχρι το 1937, ο μόνος νόμος που υπήρχε ήταν για την επισήμανση για την αποτροπή της πώλησης συσκευασμένων τροφίμων και φαρμάκων με λάθος επωνυμία. Αργότερα, μετά τον θάνατο περίπου 73 ατόμων σε μια τραγωδία σουλφανιλαμίδης το 1938, ο νόμος περί τροφίμων, φαρμάκων και καλλυντικών (FDCA) εισήχθη για να παρέχει πρότυπα για την αναγνώριση, την ποιότητα και τη συσκευασία. (Pressman, Clemens, Hayes, & Reddy)

Το 1958, εισήχθη ο νόμος για την ασφάλεια των τροφίμων των ΗΠΑ, ο οποίος λέει ότι κανένα πρόσθετο δεν πρέπει να θεωρείται ασφαλές εάν είναι καρκινογόνο ή προκαλεί οποιοδήποτε άλλο ιατρικό πρόβλημα όταν καταποθεί από άνθρωπο ή ζώα.

Η τροποποίηση του 1958 για τα πρόσθετα των τροφίμων, εισήχθη επίσης για να εξασφαλιστεί η ασφαλής χρήση των προσθέτων τροφίμων. Ο Οργανισμός Οικονομικής Συνεργασίας και Ανάπτυξης ιδρύθηκε το 1961, ο οποίος παρείχε κατευθυντήριες γραμμές για διαφορετικούς τύπους μελετών τοξικότητας (Gibb). Η Υπηρεσία Προστασίας του Περιβάλλοντος των ΗΠΑ το 1970 ιδρύθηκε για να εξασφαλίσει υγιή και φυσικά περιβάλλοντα, από τα οποία εξαρτάται η ανθρώπινη ζωή. Το 1982 συντάχθηκε το «Κόκκινο Βιβλίο» για την ασφάλεια των τροφίμων από το USFDA, το οποίο ήταν μία προσπάθεια για την αξιολόγηση της ασφάλειας των προσθέτων και των χρωμάτων των τροφίμων. Το 1997, με τον εκσυγχρονισμό του FDA θεσπίστηκε νόμος, μια ειδοποίηση επικοινωνίας για τα

τρόφιμα για την αντιμετώπιση υψηλών ανησυχιών για την ασφάλεια (Rowlands & Hoadley, 2006).

2.3 Πρόσθετα και παιδικές τροφές

Σήμερα, περισσότερες από 10000 χημικές ουσίες επιτρέπεται να προστεθούν στα τρόφιμα και υλικά που έρχονται σε επαφή με τρόφιμα στο Ηνωμένες Πολιτείες, είτε άμεσα είτε έμμεσα, βάσει του 1958 Τροφίμων Πρόσθετα Τροποποίηση του 1938 Ομοσπονδιακά τρόφιμα, φάρμακα και καλλυντικά Νόμος (FFDCA).

2.4 Βασικοί ορισμοί και ορολογία

Η πρώιμη ιστορία της τοξικολογίας επικεντρώθηκε στην κατανόηση και τις χρήσεις διαφορετικών «δηλητηρίων» και ακόμη και σήμερα οι περισσότεροι άνθρωποι τείνουν να θεωρούν τα δηλητήρια ως ένα θανατηφόρο φίλτρο που όταν καταποθεί προκαλεί σχεδόν άμεση βλάβη ή θάνατο. Καθώς η τοξικολογία έχει εξελιχθεί σε σύγχρονη επιστήμη, ωστόσο, έχει επεκταθεί για να συμπεριλάβει όλες τις μορφές δυσμενών επιπτώσεων στην υγεία που ενδέχεται να προκαλέσουν οι ουσίες, όχι μόνο τις οξείες επιβλαβείς ή θανατηφόρες επιπτώσεις. Οι ακόλουθοι ορισμοί αντικατοπτρίζουν αυτό το διευρυμένο πεδίο της επιστήμης της τοξικολογίας:

- Τοξικό—αυτό που έχει το χαρακτηριστικό να προκαλεί ανεπιθύμητη ή δυσμενή επίδραση στην υγεία.
- Τοξικότητα—οποιαδήποτε τοξική (δυσμενή) επίδραση που μπορεί να προκαλέσει ένας χημικός ή φυσικός παράγοντας σε έναν ζωντανό οργανισμό.
- Τοξικολογία—η επιστήμη που ασχολείται με τη μελέτη των δυσμενών επιπτώσεων (τοξικοτήτων) που μπορεί να παράγουν χημικές ή φυσικές ουσίες σε ζωντανούς οργανισμούς υπό συγκεκριμένες συνθήκες έκθεσης. Είναι μια επιστήμη που προσπαθεί να προσδιορίσει ποιοτικά όλους τους κινδύνους που σχετίζονται με μια ουσία, καθώς και να προσδιορίσει ποσοτικά τις συνθήκες έκθεσης υπό τις οποίες προκαλούνται αυτοί οι κίνδυνοι/τοξικότητες. Η Τοξικολογία είναι η επιστήμη που διερευνά πειραματικά την εμφάνιση, τη φύση, την επίπτωση, τον μηχανισμό και τους παράγοντες κινδύνου για τις δυσμενείς επιπτώσεις των τοξικών ουσιών.

Όπως δείχνουν αυτοί οι ορισμοί, οι τοξικές αποκρίσεις που αποτελούν τη μελέτη της τοξικολογίας εκτείνονται σε ένα ευρύ βιολογικό και φυσιολογικό φάσμα. Τα αποτελέσματα ενδιαφέροντος μπορεί να κυμαίνονται από κάτι σχετικά ασήμαντο, όπως ερεθισμός ή δακρύρροια, έως μια πιο σοβαρή απόκριση όπως οξεία και αναστρέψιμη ηπατική ή νεφρική βλάβη, σε μια ακόμη πιο σοβαρή και μόνιμη αναπηρία όπως η κίρρωση του ήπατος ή ο καρκίνος του ήπατος.

- Έκθεση—για να προκαλέσει δυσμενή επίδραση, μια τοξική ουσία πρέπει πρώτα να έρθει σε επαφή με έναν οργανισμό. Το μέσο με το οποίο ένας οργανισμός έρχεται σε επαφή με την ουσία είναι η οδός έκθεσης (π.χ. στον αέρα, το νερό, το έδαφος, τα τρόφιμα, τα φάρμακα) για τη συγκεκριμένη χημική ουσία.
- Δόση—η συνολική ποσότητα μιας τοξικής ουσίας που χορηγείται σε έναν οργανισμό σε συγκεκριμένα χρονικά διαστήματα. Η ποσότητα μπορεί να οριστεί περαιτέρω σε όρους ποσότητας ανά μονάδα βάρους σώματος ή ανά επιφάνεια σώματος.
- Εσωτερική/απορροφούμενη δόση—η πραγματική ποσότητα μιας τοξικής ουσίας που απορροφάται στον οργανισμό και κατανέμεται συστηματικά σε όλο το σώμα.
- Χορηγούμενη/αποτελεσματική/ δόση οργάνου-στόχου—η ποσότητα της τοξικής ουσίας που φτάνει στο όργανο (γνωστό ως όργανο στόχο) που επηρεάζεται δυσμενώς από το τοξικό.
- Οξεία έκθεση—έκθεση για σύντομο χρονικό διάστημα (γενικά λιγότερο από 24 ώρες). Συχνά θεωρείται ότι είναι μία μεμονωμένη έκθεση (ή δόση), αλλά μπορεί να αποτελείται από επαναλαμβανόμενες εκθέσεις εντός σύντομου χρονικού διαστήματος.
- Υποξεία έκθεση—μοιάζει με την οξεία έκθεση εκτός από το ότι η διάρκεια της έκθεσης είναι μεγαλύτερη, από αρκετές ημέρες έως έναν μήνα.
- Υποχρόνια έκθεση—εκθέσεις που επαναλαμβάνονται ή κατανέμονται σε ένα ενδιάμεσο χρονικό εύρος.
- Χρόνια έκθεση—εκθέσεις (είτε επαναλαμβανόμενες είτε συνεχείς) για μεγάλο χρονικό διάστημα (πάνω από 3 μήνες). Με τις δοκιμές σε ζώα, αυτή η έκθεση συχνά συνεχίζεται για το μεγαλύτερο μέρος της ζωής του πειραματόζωου και σε επαγγελματικό περιβάλλον θεωρείται γενικά ότι είναι για αρκετά χρόνια.

- Οξεία τοξικότητα—μια ανεπιθύμητη ή ανεπιθύμητη ενέργεια που εκδηλώνεται μέσα σε ένα σχετικά σύντομο χρονικό διάστημα που κυμαίνεται από σχεδόν αμέσως έως μέσα σε αρκετές ημέρες μετά την έκθεση (ή τη δοσολογία). Ένα παράδειγμα θα ήταν η χημική ασφυξία από έκθεση σε υψηλή συγκέντρωση του μονοξειδίου του άνθρακα (CO).
- Χρόνια τοξικότητα—μια μόνιμη ή διαρκής ανεπιθύμητη ενέργεια που εκδηλώνεται μετά από έκθεση σε μια τοξική ουσία. Ένα παράδειγμα θα ήταν η ανάπτυξη πυριτίωσης μετά από μακροχρόνια έκθεση στο πυρίτιο σε χώρους εργασίας όπως τα χυτήρια.
- Τοπική τοξικότητα - μια ανεπιθύμητη ή ανεπιθύμητη ενέργεια που εκδηλώνεται στο σημείο επαφής της τοξικής ουσίας με τον οργανισμό. Παραδείγματα περιλαμβάνουν την ικανότητα ενός οξέος να προκαλεί κάψιμο στα μάτια, ερεθισμό της ανώτερης αναπνευστικής οδού και δερματικά εγκαύματα.
- Συστημική τοξικότητα - μια ανεπιθύμητη ή ανεπιθύμητη ενέργεια που μπορεί να παρατηρηθεί σε ολόκληρο τον οργανισμό ή σε ένα όργανο με εκλεκτική ευπάθεια μακριά από το σημείο εισόδου της τοξικής ουσίας (δηλ. Η τοξική ουσία απαιτεί απορρόφηση και κατανομή εντός του οργανισμού για να παράγει το τοξικό αποτέλεσμα). Παραδείγματα θα ήταν οι δυσμενείς επιπτώσεις στους νεφρούς ή στο κεντρικό νευρικό σύστημα που προκύπτουν από τη χρόνια κατάποση υδραργύρου.
- Αναστρέψιμη τοξικότητα—μια ανεπιθύμητη ή ανεπιθύμητη ενέργεια που μπορεί να αντιστραφεί μόλις σταματήσει η έκθεση. Η αναστρεψιμότητα της τοξικότητας εξαρτάται από διάφορους παράγοντες, συμπεριλαμβανομένης της έκτασης της έκθεσης (χρόνος και ποσότητα τοξικής ουσίας) και της ικανότητας του προσβεβλημένου ιστού να επισκευαστεί ή να αναγεννηθεί. Ένα παράδειγμα περιλαμβάνει ηπατική τοξικότητα από οξεία έκθεση σε ακεταμινοφαίνη και αναγέννηση του ήπατος.
- Καθυστερημένη ή λανθάνουσα τοξικότητα—μια ανεπιθύμητη ή ανεπιθύμητη ενέργεια που εμφανίζεται πολύ μετά την έναρξη ή/και τη διακοπή της έκθεσης στην τοξική ουσία. Ένα παράδειγμα είναι ο καρκίνος του τραχήλου της μήτρας κατά την ενηλικίωση που προκύπτει από την ενδομήτρια έκθεση στη διαιθυλοστυλβεστρολή (DES).

- Αλλεργική αντίδραση - μια αντίδραση σε μια τοξική ουσία που προκαλείται από μια αλλοιωμένη κατάσταση της φυσιολογικής ανοσοαπόκρισης. Το αποτέλεσμα της έκθεσης μπορεί να είναι άμεσο (αναφυλαξία) ή καθυστερημένο.
- Ιδιοσυγκρατική αντίδραση - μια απόκριση σε μια τοξική ουσία που εμφανίζεται σε επίπεδα έκθεσης πολύ χαμηλότερα από εκείνα που απαιτούνται γενικά για να προκαλέσει το ίδιο αποτέλεσμα στα περισσότερα άτομα του πληθυσμού. Αυτή η απόκριση καθορίζεται γενετικά, και ένα καλό παράδειγμα θα ήταν η ευαισθησία στα νιτρικά άλατα λόγω ανεπάρκειας στη μεθαιμοσφαιρίνη αναγωγής NADH (ανηγμένης μορφής φωσφορική νικοτιναμίδη αδενίνη δινουκλεοσιδική).
- Μηχανισμός τοξικότητας—οι απαραίτητες βιολογικές αλληλεπιδράσεις με τις οποίες μια τοξική ουσία ασκεί την τοξική της επίδραση σε έναν οργανισμό. Ένα παράδειγμα είναι η ασφυξία με μονοξείδιο του άνθρακα (CO) λόγω της δέσμευσης του CO στην αιμοσφαιρίνη, εμποδίζοντας έτσι τη μεταφορά οξυγόνου μέσα στο αίμα.
- Τοξικό—κάθε ουσία που προκαλεί επιβλαβή (ή δυσμενή) επίδραση όταν έρχεται σε επαφή με έναν ζωντανό οργανισμό σε αρκετά υψηλή συγκέντρωση.
- Τοξίνη—οποιαδήποτε τοξική ουσία που παράγεται από έναν οργανισμό (άνθη ή πανίδα, συμπεριλαμβανομένων των βακτηρίων). δηλαδή φυσικά παραγόμενα τοξικά. Ένα παράδειγμα θα ήταν οι πυρεθρίνες, τα οποία είναι φυσικά φυτοφάρμακα που παράγονται από άνθη πυρέθρου (δηλαδή ορισμένα χρυσάνθεμα) που χρησιμεύουν ως μοντέλο για τα πυρεθροειδή της κατηγορίας τεχνητών εντομοκτόνων.
- Πηγή κινδύνου - η ποιοτική φύση της δυσμενούς ή ανεπιθύμητης επίδρασης (δηλ. το είδος της δυσμενούς επίδρασης) που προκύπτει από την έκθεση σε ένα συγκεκριμένο τοξικό ή φυσικό παράγοντα. Για παράδειγμα, η ασφυξία είναι ο κίνδυνος από την οξεία έκθεση στο μονοξείδιο του άνθρακα (CO).
- Ασφάλεια—το μέτρο ή η μαθηματική πιθανότητα ότι μια συγκεκριμένη κατάσταση έκθεσης ή δόση δεν θα προκαλέσει τοξικό αποτέλεσμα.
- Κίνδυνος—το μέτρο ή η πιθανότητα ότι μια συγκεκριμένη κατάσταση έκθεσης ή δόση θα προκαλέσει τοξική επίδραση.

- Εκτίμηση κινδύνου—η διαδικασία με την οποία χαρακτηρίζονται οι πιθανές (ή η πιθανότητα) δυσμενών επιπτώσεων στην υγεία από την έκθεση.

2.5 Τοξικότητα των προσθέτων τροφίμων

Τα πρόσθετα τροφίμων ελέγχονται ειδικά για κυτταροτοξικότητα, γονοτοξικότητα, μεταλλαξιγένεση και ηπατοτοξικότητα με διάφορες μεθόδους. Οι μελέτες για την ασφάλεια των προσθέτων τροφίμων πραγματοποιούνται με κυτταρογενετική αξιολόγηση στην οποία γίνονται δοκιμές γονιδιακής μετάλλαξης, μακροχρόνιες δοκιμές καρκινογένεσης, αναπαραγωγικές και αναπτυξιακές τοξικολογικές δοκιμές, υπερκινητικότητα, άγχος, και τεστ δραστηριότητας κατάθλιψης. Οι περιορισμοί αυτών των μελετών είναι ότι είναι πολλές φορές ακατάλληλη η *in-vivo* αξιολόγηση των αποτελεσμάτων. Επιπλέον, η κύρια πρόκληση είναι ότι δεν υπάρχουν ενιαίες κατευθυντήριες γραμμές για την κατάσταση αυτών των πρακτόρων στις διάφορες περιοχές ή παγκοσμίως.

2.5.1 Χρωστικές ουσίες

Τα φυσικά πρόσθετα χρώματος σπάνια προκαλούν ανεπιθύμητες αντιδράσεις, αλλά, ωστόσο, έχει διαπιστωθεί ότι προκαλούν πολλές φυσιολογικές δυσλειτουργίες στο σώμα. Μια μελέτη έδειξε ότι τα άτομα που έπασχαν από αγγειοοίδημα και κνίδωση εμφάνισαν διάφορες αλλεργικές αντιδράσεις έναντι της καροτίνης και της κανθαξανθίνης. Μια χρωστική με βάση την καροτίνη, γνωστή ως Annatto, αναφέρθηκε επίσης για αναφυλακτικό σοκ και επιβεβαίωσε την παρουσία ενός αντισώματος IgE, ειδικό της χρωστικής αυτής.

Ορισμένες άλλες χρωστικές όπως το σαφράν, η καρμίνη, η κουρκουμίνη και η ενοκιανίνα αναφέρθηκαν επίσης για συγκεκριμένα αντισώματα IgE έναντι αυτών των χρωστικών. Άσθμα, κνίδωση και υπερευαισθησία αναφέρθηκαν το 1959 λόγω της χρήσης χρωστικής ανιλίνης ταρτραζίνης, ένα τεχνητό χρωστικό υλικό.

Μια άλλη μελέτη έδειξε επίσης ότι τέτοιες χρωστικές ουσίες μπορεί να προκαλέσουν ημικρανία, θολή όραση, κνησμό, ρινίτιδα, ασφυξία, αδυναμία, αίσθηση θερμότητας, αίσθημα παλμών, κνησμό, και κνίδωση (Aroga, Mahajan, Gupta, & Karoor, 2009).

Το λαμπρό μπλε FCF που χρησιμοποιείται σε ορισμένα γαλακτοκομικά προϊόντα, γλυκά και ποτά απαγορεύτηκε στις περισσότερες ευρωπαϊκές χώρες λόγω της

καρκινογόνου δράσης του που έδειξε κατά τη διάρκεια μελέτης όγκου που προκαλείται σε αρουραίους. Το πράσινο FCF, το οποίο παρέχει πράσινο χρώμα σε πράσινα μπιζέλια, λαχανικά, ψάρια, επιδόρπια, ξηρά μείγματα αρτοποιίας και σάλτσες, έδειξε χρωμοσωμικές εκτροπές σε ποντίκια και αναστολή απελευθέρωσης νευροδιαβιβαστών σε αρουραίους μετά την απορρόφηση μέσω του εντέρου.

Η ινδικοτίνη, που χρησιμοποιείται ως χρωστική ουσία σε δισκία και κάψουλες, επικάλυψη, παγωτά, ζαχαροπλαστική, μπισκότα, γλυκά και ορισμένα αρτοσκευάσματα, αποδείχθηκε ότι είναι αλλεργιογόνο, όπως το επαγγελματικό άσθμα (Merham, 2011).

2.5.2 Αντιοξειδωτικά

Τα φυσικά και συνθετικά αντιοξειδωτικά χρησιμοποιούνται στη βιομηχανία τροφίμων για την παράταση της εμφάνισης και της διάρκειας ζωής των τροφίμων. Φυσικά αντιοξειδωτικά όπως η βιταμίνη C, η βιταμίνη E και ορισμένα μπαχαρικά και βότανα όπως η ρίγανη, ο βασιλικός, το δεντρολίβανο, το πιπέρι, το μοσχοκάρυδο, η κανέλα και το θυμάρι χρησιμοποιούνται κανονικά ενώ τα συνθετικά αντιοξειδωτικά, που είναι ως επί το πλείστον φαινολικής φύσης, όπως η βουτυλιωμένη υδροξυλ-ανισόλη, το βουτυλιωμένο υδροξυ-τολουόλιο και ο γαλλικός προπυλεστέρας, χρησιμοποιούνται λόγω της ευρείας διαθεσιμότητάς τους και της καλής τους απόδοσης. Διάφορες μελέτες υποδεικνύουν ότι η παρατεταμένη χρήση συνθετικών αντιοξειδωτικών μπορεί να προκαλέσει διάφορες ασθένειες ή φυσιολογικές διαταραχές όπως άσθμα, πόνο στις αρθρώσεις, δερματίτιδα, καθώς και προβλήματα στο στομάχι και στα μάτια. Μερικές φορές αναφέρθηκαν επίσης παχυσαρκία, κνίδωση και υπερβολική εφίδρωση. Μια ανθρώπινη μελέτη βουτυλιωμένης υδροξυλ-ανισόλης και βουτυλιωμένης υδροξυ-τολουόλης ανέφερε ρινίτιδα, κεφαλαλγία, άσθμα, πόνο στην πλάτη, εφίδρωση ή υπνηλία (Anbudhasan, Surendraraj, Karkuzhalii, & Sathishkumar, 2014).

Μια άλλη μελέτη σε αρουραίους, ποντίκια, χοίρους και πιθήκους έδειξε καρκινογένεση του ήπατος. Ορισμένα συνθετικά αντιοξειδωτικά παράγουν τοξικούς μεταβολίτες μετά τη θερμική επεξεργασία των τροφίμων, όπως οι γαλάτες, οι οποίοι αποσυντίθενται σε θερμοκρασία άνω των 148 C.

Οι νομικές πτυχές για τη χρήση των φυσικών αντιοξειδωτικών δηλώνουν ότι μόνο λίγα προϊόντα αναγνωρίζονται γενικά ως ασφαλή (Generally Regarded As Safe, GRAS) από διάφορους κυβερνητικούς φορείς όπως η Κοινή Επιτροπή Εμπειρογνωμόνων για τα Πρόσθετα Τροφίμων και η Επιστημονική Επιτροπή Τροφίμων της Ευρωπαϊκής Κοινότητας

και πρέπει να είναι απαλλαγμένο από καρκινογένεση και να χρησιμοποιείται εντός αποδεκτών ημερήσιων τιμών. Οι συνθετικές ενώσεις όπως η βουτυλιωμένη υδροξυλανισόλη, το νορδιϋδρογουαιαρετικό οξύ, η υδροκινόνη, το κιτρικό οξύ και ο παλμιτικός ασκορβυλεστέρας χρησιμοποιούνται αυστηρά υπό την παρατήρηση του νόμου για την πρόληψη της νόθευσης τροφίμων των κατευθυντήριων γραμμών του 2008 (Carocho, Barreiro, Morales, & Ferreira, 2014).

Τα προηγούμενα χρόνια, τα φυσικά αντιοξειδωτικά θεωρούνταν ασφαλή, αλλά ορισμένες μελέτες έδειξαν ότι έχουν επίσης περιορισμούς, όπως η βιταμίνη E υφίσταται οξείδωση ωμέγα και βήτα για να παράγει αρκετούς μεταβολίτες και όταν η βιταμίνη E συσσωρεύεται σε διπλές στοιβάδες λιπιδίων, μειώνει τη ρευστότητα της μεμβράνης. Παρόμοια αποτελέσματα παρουσιάστηκαν όπως στην περίπτωση των υψηλότερων επιπέδων χοληστερόλης.

Η τοκοφερόλη διεγείρει την πρωτεΐνη φωσφατάση 2 A με τρόπο εξαρτώμενο από τη συγκέντρωση, που οδηγεί σε αποφωσφορυλίωση και αδρανοποίηση της πρωτεϊνικής κινάσης C, ενός σημαντικού ενζύμου της διαδικασίας πολλαπλασιασμού των κυττάρων (Bast & Haenen, 2002).

2.5.3 Γλυκαντικές ουσίες

Τα φυσικά γλυκαντικά είναι υδατάνθρακες που λαμβάνονται από λαχανικά, δέντρα, σπόρους, ρίζες και ξηρούς καρπούς. Τα συνήθως χρησιμοποιούμενα φυσικά γλυκαντικά είναι το μέλι, η μελάσα, το σιρόπι σφενδάμου, η ζάχαρη καρύδας, το νέκταρ αγαύης, η ζάχαρη χουρμάς και η ξυλιτόλη.

Τα τεχνητά γλυκαντικά περιλαμβάνουν υποκατάστατα υδατανθράκων που αντικαθιστούν τα φυσικά γλυκαντικά σε ποτά και τρόφιμα λόγω της πολύ χαμηλής ή καθόλου ενεργειακής τους αξίας και της οικονομικής τους διαθεσιμότητας με υψηλότερη γλυκαντική αξία από τα φυσικά γλυκαντικά. Τα τεχνητά γλυκαντικά χρησιμοποιούνται ευρέως στο ψήσιμο, τα αναψυκτικά, τις καραμέλες, τα κονσερβοποιημένα τρόφιμα, τα μείγματα ποτών σε σκόνη, τις μαρμελάδες, την πουτίγκα, τα γαλακτοκομικά προϊόντα και τα ζελέ. Σύμφωνα με τον FDA, τα πέντε κύρια τεχνητά γλυκαντικά είναι η ασπαρτάμη, η νεοτάμη, η σακχαρίνη, η ακεσουλφάμη κάλιο και η σουκραλόζη (Neacsu & Madar, 2014).

Μια μελέτη για τη σακχαρίνη έδειξε την ισχυρή της σχέση με τη λευχαιμία, το λέμφωμα και το μύελωμα στους ανθρώπους και τον καρκίνο της ουροδόχου κύστης σε

αρουραίους. Μια συνδυασμένη μελέτη της τοξικότητας και των πέντε FDA-εγκεκριμένα τεχνητά γλυκαντικά διεξήχθησαν σε κυτταρικές σειρές παχέος εντέρου και νεφρού και τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα κύτταρα του παχέος εντέρου είναι πιο ευαίσθητα από τα νεφρικά κύτταρα σε τεχνητές γλυκαντικές ουσίες, ενώ η σακχαρίνη και η σουκραλόζη προκαλούν μεγαλύτερη βλάβη στο DNA. Σε δύο άλλες μελέτες, τα τεχνητά σάκχαρα βρέθηκαν να ενισχύουν τα αποτελέσματα του διαβήτη τύπου 2 (Qurrat-Ul-Ain & Khan, 2015).

Τοξικολογικό πρόγραμμα ρινικού λεμφικού ιστού (NALT) διεξήγαγε μια μελέτη για την ασπαρτάμη σε διαγονιδιακά ποντίκια και κατέληξε στο συμπέρασμα ότι η έκθεσή της αυξάνει τον κίνδυνο καρκίνου στα ποντίκια. Η ακεσουλφάμη-κ που αφομοιώθηκε από τον οργανισμό δεν μεταβολιζόταν αλλά διασπάται σε ακετοακεταμίδη, η οποία είναι τοξική για τον οργανισμό (Chattopadhyay, Raychaudhuri, & Chakraborty, 2014).

Η σουκραλόζη απεκκρίνεται με τα κόπρανα και μόνο το 11%-27% απορροφάται από το έντερο, φιλτράρεται από τα νεφρά και απεκκρίνεται από τα ούρα. Σύμφωνα με τον FDA είναι ασφαλές για ανθρώπινη χρήση, αλλά μια μελέτη υποδηλώνει ότι σε υψηλότερες δόσεις νευροτοξικές αλλοιώσεις προκαλούνται από τη σουκραλόζη (Rodero, Rodero, & Azoubel, 2009).

Το κυκλαμικό, ένα συνθετικό γλυκαντικό, μεταβολίζεται από βακτήρια του εντέρου σε κυκλοεξυλαμίνη, η οποία παράγει τοξικότητα. Η νεοτάμη υφίσταται υδρόλυση από το ένζυμο εστεράσης και παράγει αποεστεροποιημένη νεοτάμη και μεθανόλη.

Η ομάδα 33 διμεθυλβουτυλίου της αποεστεροποιημένης νεοτάμης μπλοκάρει τις πεπτιδάσες και έχει ως αποτέλεσμα τη μειωμένη παραγωγή φαινυλαλανίνης λόγω της αναστολής της διάσπασης του πεπτιδικού δεσμού μεταξύ του τμήματος ασπαρτικού οξέος και φαινυλαλανίνης (Chattopadhyay, Raychaudhuri, & Chakraborty, 2014).

2.5.4 Συντηρητικά

Τα συντηρητικά είναι γενικά αδύναμα οργανικά οξέα όπως το οξικό οξύ, το βενζοϊκό οξύ, το κιτρικό οξύ, το γαλακτικό οξύ, το σορβικό οξύ και το προπιονικό οξύ. Τα συντηρητικά δεν διασπώνται πλήρως και οξινίζουν το κυτταρόπλασμα, γεγονός που μεταβάλλει τις λειτουργίες της μεμβράνης και έχει ως αποτέλεσμα τη διακοπή της μεταφοράς θρεπτικών ουσιών, με αποτέλεσμα το θάνατο του μικροβίου.

Τα συντηρητικά τροφίμων όταν χρησιμοποιούνται για μεγαλύτερη διάρκεια μπορεί να οδηγήσουν σε πονοκέφαλο, σταδιακή απώλεια πνευματικής συγκέντρωσης και χαμηλή ανοσολογική απόκριση. Η μακροχρόνια χρήση αυτών των προσθέτων μπορεί να αυξήσει τον κίνδυνο καρδιαγγειακών και εκφυλιστικών ασθενειών και μερικές φορές καρκίνου. Ορισμένα συνθετικά συντηρητικά αναφέρεται ότι προκαλούν αναπνευστικά προβλήματα, αλλεργικές αντιδράσεις, αναφυλακτικό σοκ και διάφορες άλλες επιπλοκές στην υγεία. Το βορικό οξύ χρησιμοποιείται ως συντηρητικό τροφίμων σε συγκέντρωση 4 g/L, αλλά έχει αναφερθεί τοξικό για την ανθρώπινη υγεία καθώς καταστέλλει την απελευθέρωση σπέρματος από τους όρχεις και μειώνει τη γονιμότητα καταργώντας τη σύνθεση DNA στα σπερματοζωάρια.

Το ξύδι έχει αναφερθεί ότι προκαλεί τραυματισμό του οισοφάγου, υποκαλιαιμία, οστεοπόρωση και υπερρενιναιμία σε μακροχρόνια έκθεση (Inetianbor et al., 2015). Τα θειώδη έχουν αναφερθεί ότι προκαλούν αλλεργίες, ταχυπαλμία, κεφαλαλγία και καρκίνο. Τα νιτρικά και τα νιτρώδη άλατα μετατρέπονται σε νιτρώδες οξύ μετά την πέψη με την τροφή και είναι ύποπτα για κατακρήμνιση καρκίνου του στομάχου.

Τα βενζοϊκά είναι επίσης ύποπτα για άσθμα, δερματικά εξανθήματα και αλλεργίες και τα σορβικά για υποψία πρόκλησης κνίδωσης και δερματίτιδας (Sharma, 2015).

Αρωματικοί παράγοντες

Πολλές ουσίες ορίζονται χημικά για χρήση ως αρωματικοί παράγοντες στις Ηνωμένες Πολιτείες και την Ευρώπη. Οι αρωματικοί παράγοντες και άλλα πρόσθετα αξιολογούνται από την ομάδα εμπειρογνομόνων «Flavor Extract Manufacturers Association» (FEMA) και αναγνωρίζονται από τον FDA. Οι Moran et al. (1980) μελέτησαν την οξεία στοματική τοξικότητα 63 επιλεγμένων αρωματικών παραγόντων. Σε αυτή τη μελέτη, βρέθηκε ότι η 2-αιθυλ 4, 5-διμεθυλθειαιζολίνη ήταν πολύ τοξική λόγω του δακτυλίου θειαιζόλης στο δομικό τμήμα του συνενζύμου πυροφωσφορικής θειαμίνης. Αυτό το συνένζυμο συμμετέχει στη μεταφορά και τον σχηματισμό της αποικοδόμησης αλδευδών και κετολών. Οι θειοεστέρες του φουρανίου και δύο άλλοι εστέρες, ο καρβοξυλικός αιθυλεστέρας και το μεθυλεξάνιο, έδειξαν επίσης σοβαρή τοξικότητα (Moran, Easterday, & Oser, 1980).

Οι Sales et al. (2018) μελέτησε διάφορες αρωματικές ουσίες, όπως φράουλα, βανίλια, σοκολάτα, tutti-frutti και μπισκότα για το κυτταροτοξικό, γονοτοξικό και μεταλλαξιογόνο δυναμικό τους. Τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης ανέφεραν την αλλαγή

στον αριθμό των πολυχρωματικών ή ανώριμων κυττάρων στο μυελό των οστών, μειωμένη ερυθροποίηση, και παραγωγή μικροπύρηνων ερυθροκυττάρων. Μια άλλη μελέτη ανέφερε ότι το βενζοϊκό κάλιο, το βενζοϊκό νάτριο και το νιτρικό κάλιο ήταν γονοτοξικά και κυτταροτοξικά για τα ανθρώπινα κύτταρα του περιφερικού αίματος. Το βορικό οξύ, το κιτρικό νάτριο και κάλιο και το κιτρικό οξύ αναφέρθηκαν ότι είναι γονιδοτοξικά και κυτταροτοξικά στον μερισματικό ιστό της ρίζας *Allium cepa* (Sales, et al., 2018).

Τα φυσικά αρωματικά σύμπλοκα λαμβάνονται από πολτό, φλούδα, φύλλα, μπουμπούκια, άνθη, φλοιό ή λαχανικά χρησιμοποιώντας διάφορες μεθόδους επεξεργασίας και υπάρχει ανάγκη αξιολόγησης της τοξικότητάς τους (Smith, et al., 2004).

2.5.5 Γαλακτωματοποιητές

Οι γαλακτωματοποιητές χρησιμοποιούνται για να βοηθήσουν την υφή στα επεξεργασμένα τρόφιμα και να παρατείνουν τη διάρκεια ζωής με την πρόληψη του διαχωρισμού των μειγμάτων. Οι γαλακτωματοποιητές χρησιμοποιούνται κυρίως σε κρεμώδεις σάλτσες, καραμέλες, παγωτά, μαργαρίνη, αρτοσκευάσματα και μαγιονέζα. Οι γαλακτωματοποιητές που χρησιμοποιούνται συνήθως είναι το πολυσορβικό-80 και η καρβοξυμεθυλοκυτταρίνη σε διάφορα παρασκευάσματα.

Κατά τη διάρκεια μελετών φαρμακολογικής τοξικότητας, αυτοί οι γαλακτωματοποιητές έδειξαν τοξικότητα όπως διαταραχή των βακτηρίων του εντέρου, καθυστερημένες ανοσολογικές αποκρίσεις, παχυσαρκία και σύνδρομο ευερέθιστου εντέρου.

Μια άλλη μελέτη έδειξε ότι οι γαλακτωματοποιητές προάγουν τη βακτηριακή μετατόπιση κατά την οποία τα βακτήρια μετακινούνται στα επιθηλιακά κύτταρα και τελικά εμφανίζεται η νόσος του Crohn.

Οι γαλακτωματοποιητές αύξησαν τη διαπερατότητα του εντέρου μέσω της οποίας εισβάλλουν βακτήρια εντός των μακροφάγων όπως η *Escherichia coli* και καταλήγουν σε σχηματισμό αποστήματος, κοκκιωμάτων και συριγγίου. Πρόσφατη έρευνα πρότεινε επίσης ότι οι γαλακτωματοποιητές προάγουν φλεγμονή χαμηλού βαθμού, που μεταβάλλει τη μικροχλωρίδα του εντέρου και παρέχει επαρκείς συνθήκες για την ανάπτυξη φλεγμονώδους νόσου του εντέρου ή καρκίνου του παχέος εντέρου (Aronso, De Silva, & Abeysundara, 2017).

2.5.6 Ρυθμιστές οξύτητας

Οι οξινοστές χρησιμοποιούνται κυρίως σε αναψυκτικά, ζελέ, γλυκά, μαρμελάδες, καραμέλες, ψητά θρεπτικά συστατικά, φρουτοτροφές και μαρμελάδες. Διάφορες μελέτες πρότειναν ότι αυτά τα πρόσθετα παρουσιάζουν διαφορετικούς τύπους τοξικότητας (Abu & Raga, 2015). Το οξικό οξύ, που χρησιμοποιείται ως οξινοστής, έχει αναφερθεί ότι προκαλεί αλλεργία, ξινίλες στο στόμα, επιδερμικές αντιδράσεις, οξέωση, και νεφρική ανεπάρκεια με μείωση της αποτελεσματικότητας πήξης (Shibata, Tamano, Shirai, Kawabe, & Fukushima, 1992). Το κιτρικό οξύ, ένας ευρέως χρησιμοποιούμενος ρυθμιστής οξέος, αναφέρεται για την τοξικότητα των οδοντικών κυττάρων, τις νεκρωτικές αλλαγές στα ηπατοκύτταρα, τη μείωση της χρωματίνης και την αύξηση της παραγωγής μικροκυρήνων ερυθροκυττάρων.

Μια άλλη μελέτη αναφέρει ότι το κιτρικό οξύ ενισχύει τις χρωμοσωμικές εκδορές και τον μειωμένο μιτωτικό δείκτη (Carocho, Barreiro, Morales, & Ferreira, 2014).

2.5.7 Αφριστικοί παράγοντες

Οι φυσικοί και χημικοί παράγοντες αφρισμού χρησιμοποιούνται για την παραγωγή αφρού. Οι χλωροφθοράνθρακες και οι υδρογονάνθρακες χαμηλού βρασμού είναι γνωστοί ως υγροί αφριστικοί παράγοντες. Το άζωτο και το διοξείδιο του άνθρακα αντιμετωπίζονται ως φυσικοί αφριστικοί παράγοντες αερίου (Rhomie & Heck, 1998). Γενικά, δύο τύποι επιπλοκών συνδέονται με τον υπερβολικό αφρισμό σε βιολογικές διεργασίες.

Ο αφρισμός αυξάνει τον όγκο του υγρού των βιοαντιδραστών, γεγονός που μειώνει τις συγκεντρώσεις του βιοκαταλύτη και την απόδοση των κυττάρων. Ο σχηματισμός αφρού σχετίζεται επίσης με τη μετουσίωση πρωτεϊνών και ενζύμων, η οποία αυξάνει τη γήρανση στα κύτταρα. Το διττανθρακικό νάτριο διασπάται στους 140 C για να δώσει διοξείδιο του άνθρακα και νερό, χρησιμοποιείται με κιτρικό οξύ ή κιτρικό νάτριο ως παράγοντα αφρισμού, αλλά μπορεί να οδηγήσει σε ήπια υπέρταση λόγω αυξημένης συγκέντρωσης νατρίου στο σώμα (Vardar-Sukan, 1998).

2.5.8 Πηκτωματογόνοι παράγοντες

Κανονικά, τα υδροκολλοειδή χρησιμοποιούνται ως πηκτωματοποιητές για τη βελτίωση της ποιότητας και την αύξηση της διάρκειας ζωής. Οι πηκτωματοποιητές χρησιμοποιούνται κυρίως σε μαρμελάδες, ζελέ, μαρμελάδες και αναδομημένα τρόφιμα και έχουν επίσης την

ικανότητα να αλλάζουν τη ρεολογία των συστημάτων τροφίμων όπως η συμπεριφορά ροής και η υφή (Xiaolong, et al., 2015).

Σε ορισμένα σκευάσματα, όπως σούπες, σάλτσες, γαρνιτούρες, σάλτσες και σάλτσες σαλάτας, αυτοί οι παράγοντες χρησιμοποιούνται για να προσδώσουν ιξώδες και αίσθηση στο στόμα (Saha and Bhattacharya, 2010). Οι μελέτες τοξικότητας του πηκτωματογόνου παράγοντα έδειξαν ότι μετά από μακροχρόνια χρήση, μπορεί να ευθύνονται για αύξηση του βάρους του ήπατος, των λεμφαδένων και της σπλήνας. Αναφέρεται επίσης η κοκκιωματώδης φλεγμονή του ήπατος και η υπερπλασία των δικτυοενδοθηλιακών κυττάρων του μεσεντερίου λεμφαδένα (Aguilar, Autrup, Barlow, & Castle, 2007).

2.5.9 Υγροσκοπικοί παράγοντες

Τα υγραντικά χρησιμοποιούνται κυρίως για τη διατήρηση της υγρασίας στα παρασκευάσματα. Τα υγραντικά που χρησιμοποιούνται συνήθως είναι η γλυκερίνη και η προπυλ-γλυκόλη. Η μελέτη τοξικότητας που πραγματοποιήθηκε από τους Heck et al. (2002) έδειξε χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια και καρκίνο, αλλά δεν ήταν σαφή τα αποτελέσματα που έδειχναν ότι αυτές οι ιατρικές καταστάσεις οφείλονται στο κάπνισμα ή στα υγροσκοπικά, καθώς πραγματοποιήθηκαν μελέτες σε ζώα εκτεθειμένα στον καπνό (Heck, Gaworski, Rajendran, & Morrissey, 2002).

2.5.10 Προωστικές ύλες

Τα προωθητικά (ή προωστικές ύλες) χρησιμοποιούνται για την παρασκευή αερολυμάτων, αλλά λόγω μη φυσιολογικών καρδιακών και αναπνευστικών αποκρίσεων που αναφέρθηκαν σε χρήστες αεροζόλ, η χρήση τους ήταν περιορισμένη. Αλογονωμένοι υδρογονάνθρακες όπως οι χλωροφθοράνθρακες χρησιμοποιήθηκαν ως προωθητικά επειδή ήταν αδρανείς και σε υγρή κατάσταση σε χαμηλή πίεση.

Τα ευρήματα της FC11 στο αίμα 12 ασθενών με άσθμα και η αλλαγή των καρδιακών λειτουργιών σε ορισμένες μελέτες σε ζώα προκάλεσαν τον έλεγχο τοξικότητας των προωθητικών. Περαιτέρω μελέτες ανέφεραν ότι η χρήση προωθητικών μπορεί να προκαλέσει υπόταση, μειωμένο παλμορροϊκό όγκο, βραδυκαρδία ή ταχυκαρδία (Olson, 1977). Μια άλλη μελέτη για το φθοροαλκάνιο, που χρησιμοποιείται επίσης ως προωθητικό σε αερολύματα, το βρήκε πολύ τοξικό για την καρδιά και προκαλεί κολποκοιλιακό

αποκλεισμό, καταστολή του κύματος T και φλεβοκομβική βραδυκαρδία που προκαλείται από ασφυξία (Taylor IV & Harris, 1970).

Πίνακας 1: Πρόσθετα, χρήσεις και τοξικές επιδράσεις

Πρόσθετο	Χρήση	Παράδειγμα	Τοξική επίδραση
Παράγοντες οξίνισης	Οξίνιση, ξίνισμα γεύσης	Υδροξείδιο του αμμωνίου	Πρόσληψη βάρους
Ρυθμιστές οξίνισης	Ρύθμιση pH	Οξικό οξύ	Χρωμοσωμική μετάλλαξη
Αντισυσσωματικοί παράγοντες	Μείωση της συσσωματικής τάσης των μορίων	Σιδηροκυανιούχο νάτριο	Νευρική τοξικότητα
Αντιαφριστικοί παράγοντες	Αποτροπή αφρισμού	Υγρά Σιλικόνης	Νευρική τοξικότητα
Αντιοξειδωτικά	Προστασία κατά την οξείδωση	Γαλλικό οξύ	Άσθμα, προβλήματα με τον στόμαχο και τους οφθαλμούς
Χρωστικές	Χρώση των τροφίμων	Τατραζίνη	Καρκίνος, υπερκινητικότητα
Παράγοντες διατήρησης χρώματος	Διατήρηση χρώματος των τροφίμων	Ασκορβικό οξύ	Γήρανση, καρκίνος
Γαλακτωματοποιητές	Σταθεροποίηση κολλοειδών συστημάτων διασποράς	Καρβοξυ-μεθυλοκυτταρίνη	Διαταραχή μικροβιώματος του εντέρου
Ενισχυτές γεύσης	Ενίσχυση της γεύσης	Μονογλουταμινικό νάτριο	Καρκίνος, ζημιά στο DNA
Αφριστικοί παράγοντες	Ομογενοποίηση του συστήματος διασποράς	Διτανθρακικό νάτριο	Γήρανση, απενεργοποίηση ενζύμων
Πηκτωματογόνοι παράγοντες	Σχηματισμός πηκτών	Norsorex	Γενοτοξικότητα
Ουσίες γλασαρίσματος	Σχηματισμός λείας επιφάνειας	Στεαρικό οξύ	Αύξηση λέμφου σπλήνας και ήπατος
Υγροσκοπικοί παράγοντες	Διατήρηση υγρασίας	Γλυκερίνη	Υπερπλασία δικτυοενδοθηλιακών κυττάρων

2.6 Μεθοδολογία για τον προσδιορισμό της τοξικότητας των προσθέτων

2.6.1 *In-vitro* δοκιμές γενετικής τοξικότητας

Οι δοκιμές γενετικής τοξικότητας μπορούν να ανιχνεύσουν χρωμοσωμική καταστροφή και γονιδιακές μεταλλάξεις από μεταλλαξιογόνες χημικές ουσίες που μπορεί να προκαλέσουν δυσμενή προβλήματα υγείας όπως καρκίνο, κυτταρική μετάλλαξη και κληρονομικές ασθένειες. Τόσο *in-vitro* όσο και *in-vivo* μέθοδοι είναι διαθέσιμες για την ανίχνευση γονιδιακών μεταλλάξεων. Αυτές οι δοκιμές χρησιμοποιήθηκαν για την εκτίμηση της τοξικότητας οργάνων, της γονοτοξικότητας, βλάβη ή αλλοίωση στο κληρονομικό υλικό κυττάρων/ατόμων και για μίμηση ιστού-στόχου. Περίπου 5000 ανθρώπινες ασθένειες οφείλονται σε ελαττωματικά γονίδια ή σε αλλοίωση των φυσιολογικών διεργασιών από ελαττωματικό γενετικό υλικό. Περίπου το 20% των εμβρυϊκών και βρεφικών θανάτων, το 50% των αποβολών, και το 80% των περιπτώσεων νοητικής υστέρησης οφείλεται σε κληρονομικές διαταραχές. Οι νέες τεχνολογίες όπως η γονιδιωματική, η *in vivo* παρακολούθηση και οι αυτοματοποιημένοι αναλυτές είναι τυποποιημένες για μελέτες γενετικής τοξικότητας για την ακρίβεια και την ακρίβειά τους. Οι νέοι κανονισμοί όπως η μείωση των δοκιμών σε ζώα από την ευρωπαϊκή εγγραφή, αξιολόγηση, η έγκριση και ο περιορισμός των χημικών ουσιών και οι νέες προσεγγίσεις όπως οι δοκιμές τοξικότητας στον 21ο αιώνα αποτελούν εξελίξεις ορόσημο στις μελέτες γενετικής τοξικότητας. Ο FDA και η EPA εξέδωσαν νέες κατευθυντήριες γραμμές για καλύτερη αξιολόγηση δεδομένων και διαχείριση κινδύνου (Elespuru, et al., 2009).

2.6.2 *In-vitro* δοκιμή βακτηριακής μετάλλαξης

Αυτή η δοκιμή, γνωστή και ως δοκιμή Ames, χρησιμοποιείται για τον εντοπισμό της μεταλλαξιογόνου ουσίας που προκαλεί σημειακές μεταλλάξεις, όπως μεταλλάξεις μετατόπισης πλαισίου ή αντικαταστάσεις ζευγών βάσεων. Σε αυτή τη δοκιμή χρησιμοποιούνται δύο βακτηριακά στελέχη με αναγνωρισμένες μεταλλάξεις σε αμινοξέα (Mendes, Bispo, Campos, & Silva, 2013).

Χρησιμοποιήθηκαν γενικά *Salmonella typhimurium* με ιστιδίνη και *E. coli* με μετάλλαξη τρυπτοφάνης. Όταν αυτά τα βακτήρια αναπτύχθηκαν σε μέσα που περιείχαν μεταλλαξιογόνο ουσία, προκάλεσε μια δεύτερη μετάλλαξη που ανέστρεψε τις υπάρχουσες μεταλλάξεις αποκαθιστώντας την ικανότητα σύνθεσης ανεπαρκούς αμινοξέος. Ως εκ

τούτου, αυτή η δοκιμή ήταν επίσης γνωστή ως δοκιμή αντίστροφων μεταλλάξεων. Η δοκιμή περιελάμβανε προσθήκη, διαγραφή ή υποκατάσταση ενός ή περισσότερων ζευγών βάσεων DNA. Αυτή η δοκιμή βασίζεται σε σημειακή μετάλλαξη, η οποία προκαλεί πολλές γενετικές διαταραχές στους ανθρώπους, όπως σημειακή μετάλλαξη στο ογκογονίδιο και γονίδιο καταστολής όγκου σε σωματικά κύτταρα, και τελικά οδηγεί σε καρκίνο και όγκους, αντίστοιχα, σε πειραματόζωα και ανθρώπους. Αυτές οι μελέτες είναι γρήγορες, χαμηλού κόστους και εύκολο να εκτελεστούν σε εργαστήριο (Pagnout, Jomini, & Bauda, 2014).

Υπήρχαν επίσης ορισμένοι περιορισμοί αυτής της δοκιμής, όπως η χρήση προκαρυωτικών κυττάρων που έχουν διαφορετικές δομές χρωμοσωμάτων, η διαδικασία επιδιόρθωσης του DNA και ο μεταβολισμός και η απαίτηση μεταβολικού ενεργοποιητή από εξωγενή πηγή. Τα αποτελέσματα αυτών των μελετών μπορούν μόνο να αποδείξουν τη γονοτοξικότητα, αλλά δεν μπορούν να εκτιμήσουν την καρκινογόνο ή μεταλλαξιογόνο ισχύ του υπόστρωμα δοκιμής σε ανθρώπους, επομένως τέτοιες μελέτες εφαρμόστηκαν μόνο για την εύρεση αρχικών δεδομένων τοξικότητας.

Οι χημικές ουσίες που είναι εξαιρετικά τοξικές για τα βακτήρια όπως τα αντιβιοτικά ή η βακτηριοστατική φύση δεν μπορούν να ελεγχθούν με αυτήν τη μέθοδο. Οι ενώσεις που ήταν δραστικές μόνο σε κύτταρα θηλαστικών όπως αναστολείς τοποϊσομεράσης ή ανάλογα νουκλεοσιδασών δεν έδειξαν κανένα αποτέλεσμα σε τέτοιες μελέτες αλλά είναι γονιδοτοξικές στη φύση. Οι πλέον χρησιμοποιούμενες μέθοδοι για δοκιμές βακτηριακής μετάλλαξης αναστροφής ήταν η μέθοδος προεπάσης, η μέθοδος διακύμανσης, η μέθοδος ενσωμάτωσης και η μέθοδος εναιώρησης.

Οι χημικές ουσίες ή οι ενώσεις όπως η αλειφατική νιτροζαμίνη μικρής αλυσίδας, η αλδεΐδη, η πυρρολιζιδίνη, οι νιτροενώσεις, οι αζωχρωστικές, οι διαζω ενώσεις, τα αλκαλοειδή, τα δισθενή μέταλλα και οι αλλυλ- ενώσεις ελέγχθηκαν πιο αποτελεσματικά για τη γονοτοξικότητά τους (Chandrasekhar, Lakshmi, & Suresh, 2013).

2.6.3 *In-vitro* δοκιμές μετάλλαξης γονιδίων κυττάρων θηλαστικών με χρήση των γονιδίων *hprt* και *xprt*

Η δοκιμή αφορά μόνο εκείνες τις ουσίες που προκαλούν γονιδιακή τοξικότητα όταν εκτίθενται σε γονίδιο υποδοχέα φωσφοριβοσυλτρανσφοράσης υποξανθινογουανίνης (*hprt*) ή φωσφοριβοσυλτρανσφοράσης ξανθινογουανίνης (*xprt*). Ο ΟΟΣΑ όρισε τις κατευθυντήριες

γραμμές δοκιμών το 1984 ως TG476, οι οποίες αναθεωρήθηκαν πολλές φορές μέχρι το 1997.

Οι παρούσες οδηγίες αναπτύχθηκαν χρησιμοποιώντας το γονίδιο κινάσης θυμιδίνης για τη μελέτη της γενετικής τοξικότητας. Αυτό το τεστ μετρά τις εμπρός μεταλλάξεις σε γονίδια υποδοχέα, ιδιαίτερα το γονίδιο φωσφοριβοσυλτρανσφεράσης υποξανθίνης-γουανίνης (hprt σε ανθρώπους και xprt σε τρωκτικά) και το διαγονίδιο φωσφοριβοσυλτρανσφεράσης ξανθίνης-γουανίνης (gpt).

Η δοκιμή hprt ανιχνεύει μεταλλάξεις μετατόπισης πλαισίου, αντικατάσταση ζεύγους βάσεων, εισαγωγές και μικρές διαγραφές. Η δοκιμή gpt (δοκιμή XPRT) βρίσκει τη διαγονιδιακή αυτοσωμική θέση gpt με την οποία εμφανίζεται μεγάλη διαγραφή και μιτωτικός ανασυνδυασμός. Το τεστ hprt χρησιμοποιείται ευρύτερα για ρυθμιστικούς σκοπούς. Η δοκιμή in vitro απαιτεί ένα σύστημα μεταβολικής ενεργοποίησης, επομένως δεν μιμείται τις συνθήκες in vivo.

Η μόλυνση του μέσου από μυκόπλασμα έχει επίσης ψευδή αποτελέσματα. Τα κύτταρα με ανεπαρκή ενζυμική δραστηριότητα hprt και ανεπαρκή ενζυμική δραστηριότητα xprt είναι ανθεκτικά στην 6-θειογουανίνη, ένα ανάλογο πουρίνης. Σε υγιή κύτταρα η 6-θειογουανίνη αναστέλλει τον κυτταρικό μεταβολισμό και σταματά την κυτταρική διαίρεση. Τα μεταλλαγμένα κύτταρα επιβιώνουν παρουσία 6-θειογουανίνης, αλλά καλά κύτταρα με ενζυμικές δραστηριότητες hprt και gpt δεν επιβιώνουν.

Η χημική ουσία βρίσκει εφαρμογή σε καλλιέργειες κυτταρικού εναιωρήματος ή μονοστοιβάδας παρουσία μεταβολικού ενεργοποιητή και χωρίς μεταβολικό ενεργοποιητή για 3-4 ώρες και στη συνέχεια υποκαλλιεργείται. Η αποτελεσματικότητα της κλωνοποίησης εκτιμάται αμέσως μετά τη δοκιμή και προσαρμόζεται με οποιαδήποτε απώλεια κυττάρων με αρνητικό έλεγχο. Τα επεξεργασμένα κύτταρα επώάζονται για 7-9 ημέρες ή όπως απαιτείται σε κατάλληλο μέσο, τότε μετρώνται οι αποικίες.

Τα συνήθως χρησιμοποιούμενα μεταλλαγμένα κύτταρα για τη δοκιμή hprt είναι οι σειρές CHO, CHL, V79 κυττάρων κινέζικου χάμστερ, TK 6 ανθρώπινο λεμφοβλαστοειδές και κύτταρα λεμφώματος ποντικού L5178Y. Για τη δοκιμή gpt ή XPRT προτιμώνται μεταλλαγμένα κύτταρα AS 52 που προέρχονται από CHO. Η κυτταροτοξικότητα εκφράζεται ως σχετική επιβίωση και ως συχνότητα μεταλλάξεων (OECD, Test No. 476: In Vitro

Mammalian Cell Gene Mutation Tests Using the Hprt and xprt Genes, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4., 2016).

2.6.4 *In-vitro* δοκιμή χρωμοσωμικών εκτροπών σε θηλαστικά

Αυτή η δοκιμή προσδιορίζει τις ουσίες που μπορεί να διαγράψουν ή να αναδιατάξουν τις χρωμοσωμικές δομές σε καθιερωμένες καλλιέργειες κυτταρικής σειράς. Κυρίως, το χημικό μεταλλαξογόνο προκαλεί ανωμαλίες τύπου χρωματιδίου. Μια χρωμοσωμική παρέκκλιση προκαλεί διάφορες ανθρώπινες γενετικές ανωμαλίες όπως αλλοίωση των ογκοκατασταλτικών γονιδίων και των ογκογονιδίων. Με βάση την κατάσταση p53, η γενετική σταθερότητα, η ικανότητα επιδιόρθωσης του DNA και κύτταρα οργάνων, επιλέγονται για αυτήν τη δοκιμή καλλιέργεια κυτταρικών γραμμών ή καλλιέργεια πρωτογενών κυττάρων.

Οι περιορισμοί της δοκιμής περιλαμβάνουν εξωγενή πηγή μεταβολικού ενεργοποιητή, ενδογενή μεταλλαξιογένεση, αλλαγή στο pH και υψηλά επίπεδα κυτταροτοξικότητας, που μπορεί να οδηγήσουν σε τεχνητά θετικά αποτελέσματα. Οι κυτταρικές σειρές υποβάλλονται σε αγωγή με και χωρίς μεταβολικό ενεργοποιητή και μετά από προκαθορισμένα διαστήματα υφίστανται και πάλι αγωγή με κολσεμίδη ή κολχικίνη, παράγοντες αναστολής της μεταφάσεως. Οι κυτταρικές σειρές συλλέγονται και χρωματίζονται, στη συνέχεια αναλύονται για χρωμοσωμικές ανωμαλίες μικροσκοπικά. Υπάρχουν πολλά στελέχη, κυτταρικές σειρές, και πρωτογενείς κυτταρικές καλλιέργειες που χρησιμοποιήθηκαν για την εκτέλεση αυτής της δοκιμής (OECD, Proposal for Updating Guideline 473: In Vitro Mammalian Chromosome Aberration Test., 2010).

2.6.5 *In-vitro* δοκιμή μικροπυρήνων κυττάρων θηλαστικών

Η δοκιμή προσδιορίζει τα μεταλλαξιογόνα υλικά που προκαλούν ανευπλοειδία ή σπασίματα χρωμοσωμάτων ή και τα δύο. Κατά τη διάρκεια της ανάφασης της κυτταρικής διαίρεσης, όταν ένα θραύσμα χρωμοσώματος ή ένα άθικτο χρωμόσωμα δεν μετακινείται στον μιτωτικό πόλο, τότε σχηματίζεται ένας μικροπυρήνας που οδηγεί σε ένα μέρος ανεπαρκούς θυγατρικών πυρήνων. Αυτή η δοκιμή ανιχνεύει και τα δύο κλαστογόνα, έναν μεταλλαξογόνο παράγοντα που προκαλεί χρωμοσωμική θραύση και αριθμητικές ανωμαλίες που προκαλούνται από το ανευγόνο, ή πλήρη χρωμοσωμική ανεπάρκεια. Γενικά, σε αυτή τη δοκιμή χρησιμοποιούνται λεμφοκύτταρα περιφερικού αίματος

θηλαστικών. Οι κατευθυντήριες γραμμές του ΟΟΣΑ για *in-vitro* δοκιμή μικροπυρήνων κυττάρων θηλαστικών έγιναν αποδεκτές το 2010 και αναθεωρήθηκαν το 2016. Η δοκιμή βασίστηκε στην ανίχνευση μικροπυρήνων στο κυτταρόπλασμα των ενδοφασικών κυττάρων που προέρχονται από θραύσματα χρωμοσωμάτων που δεν διαθέτουν κεντρομερίδιο. Το πρωτόκολλο που χρησιμοποιήθηκε στη δοκιμή ήταν με ή χωρίς κυτοχλασίνη Β), η οποία ήταν ένας αναστολέας πολυμερισμού ακτίνης (OECD, Test No. 487: In Vitro Mammalian Cell Micronucleus Test. OECD Guidelines for the Testing of, 2016).

In-vivo δοκιμές γενετικής τοξικότητας

2.6.6 Δοκιμασία γονιδιακής μετάλλαξης διαγονιδιακών τρωκτικών σωματικών και γεννητικών κυττάρων

Η δοκιμασία μετάλλαξης διαγονιδιακών τρωκτικών χρησιμοποιείται για τον εντοπισμό ουσιών που προκαλούν μεταλλάξεις στα γονίδια των διαγονιδιακών υποδοχέων και προκαλούν χρωμοσωμικές ανωμαλίες. Οι μεταλλάξεις που προκλήθηκαν από τις υπό δοκιμή χημικές ουσίες ανιχνεύθηκαν από διαγονίδια που περιέχουν γονίδια υποδοχέα. Η ανάκτηση διαγονιδίων και η ανάλυση του φαινοτύπου του γονιδίου του υποδοχέα σε βακτηριακό ξενιστή (ανεπάρκεια σε γονίδιο υποδοχέα) δίνει τη βαθμολογία των μεταλλάξεων. Το διαγονίδιο ανταποκρίνεται σε μεταλλαξιόγόνους παράγοντες με υποκατάσταση ζεύγους βάσεων, μεταλλάξεις μετατόπισης πλαισίου, εισαγωγές και μικρές διαγραφές. Τα συνιστώμενα διαγονιδιακά ζώα είναι ποντίκι βακτηριοφάσης *lacZ*, ποντίκι δέλτα *gpt*, *lacI* ποντίκι ή αρουραίος, *lacZ* πλασμιδιακό ποντίκι και κοινώς χρησιμοποιούμενα μεταλλαξιόγωνα ήταν η Ν-αιθυλ-Ν-νιτροζουρία, ο καρβαμικός αιθυλεστέρας (ουρεθάνη), το 2,4-διαμινοτολουόλιο και το βενζοπυρένιο.

Οι πιθανοί στόχοι για αυτά τα μεταλλαξιόγωνα ήταν το σκυώτι σε αρουραίους και ο μυελός των οστών, το κόλον, το ήπαρ, οι πνεύμονες και τα αρσενικά γεννητικά κύτταρα. Στο πείραμα, τα τρωκτικά υποβλήθηκαν σε θεραπεία με ελεγχόμενη χημική ουσία για καθορισμένο χρόνο (κυρίως 28 ημέρες) με κατάλληλη οδό χορήγησης. Στη συνέχεια, μετά τη θεραπεία, 44 ζευγαρωμένες βλάβες DNA σταθεροποιήθηκαν σε σταθερή μετάλλαξη.

Καταγράφηκαν οι χρόνοι ανάγνωσης για εκδήλωση, καθήλωση, έκφραση και δειγματοληψία. Στη συνέχεια τα ζώα θανατώθηκαν και το γονιδιωματικό DNA απομονώθηκε από τον ιστό και καθαρίστηκε. Μετά τη μελέτη, ο ιστός που συλλέγεται για

μελέτη μεταλλαξιόγνου και καρκινογόνου τοξικότητας πρέπει να φυλάσσεται σε θερμοκρασία κάτω των 270 C και να χρησιμοποιείται εντός 5 ετών για απομόνωση DNA.

Το απομονωθέν DNA αποθηκεύτηκε στους 4°C σε κατάλληλο ρυθμιστικό διάλυμα και αναλύθηκε εντός ενός έτους. Τα παρατηρούμενα δεδομένα ήταν ο αριθμός των μονάδων πλάκας ή αποικίας, ο αριθμός μεταλλαγμάτων, η συχνότητα μεταλλάξεων, καθώς και ο αριθμός των αντιδράσεων ανά δείγμα DNA εάν χρησιμοποιήθηκαν πολλαπλές αντιδράσεις συσκευασίας ή διάσωσης (OECD, . Test No. 488: Transgenic Rodent Somatic and Germ Cell Gene Mutation Assays, OECD Guidelines, 2013).

2.6.7 *Δοκιμή χρωμοσωμικών εκτροπών μυελού των οστών θηλαστικών*

Αυτή η δοκιμή προσδιορίζει ουσίες που προκαλούν δομικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες τύπου χρωμοσώματος ή χρωματιδίου στα κύτταρα του μυελού των οστών. Οι κατευθυντήριες γραμμές του ΟΟΣΑ που εγκρίθηκαν ως TG 475 το 1984 και η επί του παρόντος αναθεωρημένη έκδοση του 1997 υιοθετούνται για τη ρύθμιση τέτοιων μελετών. Οι περιορισμοί των in vitro μελετών ξεπεράστηκαν σε αυτή τη μελέτη.

Αυτή η δοκιμή προσεγγίζει τη γενετική τοξικότητα λαμβάνοντας υπόψη τον μεταβολισμό, τη φαρμακοκινητική και την ικανότητα επιδιόρθωσης του DNA απευθείας από το σώμα, ώστε να μπορεί να θεωρηθεί ως περαιτέρω αξιολόγηση της γονοτοξικότητας της μεθόδου in vitro. Εκτελείται με έκθεση σε ελεγχόμενη χημική ουσία και στη συνέχεια επεξεργασία με μεταφάση παράγοντες αναστολής όπως η κολκεμίδα και η κολχικίνη και η απομόνωση των κυττάρων του μυελού των οστών, η χρώση και η ανάλυση των κυττάρων μετάφασης για χρωμοσωμική εκτροπή. Χρησιμοποιήθηκαν τα υγιή νεαρά ενήλικα ζώα, συνήθως αρουραίοι. Μία ή περισσότερες θετικές ουσίες ελέγχου όπως ο αιθυλομεθανοσουλφονικός εστέρας, ο μεθυλομεθανοσουλφονικός εστέρας, η αιθυλική νιτροζουρία, η μιτομυκίνη C, η κυκλοφωσφαμίδα και η τριαιθυλενομελαμίνη χρησιμοποιήθηκαν για την αύξηση της συχνότητας των κυττάρων με δομικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες (OECD, Test No. 475: Mammalian Bone Marrow Chromosomal Aberration Test, 2016).

2.6.8 *Δοκιμή μικροπυρήνων ερυθροκυττάρων θηλαστικών*

Οι ουσίες, οι οποίες επάγουν μικροπυρήνες στους ερυθροβλάστες, αξιολογούνται με αυτή τη μέθοδο και εκτιμώνται ως ανώριμα ερυθροκύτταρα ή δικτυοερυθροκύτταρα. Οι

κατευθυντήριες γραμμές του ΟΟΣΑ για αυτή τη δοκιμή εγκρίθηκαν το 1983 και η αναθεωρημένη έκδοση του 1997 έγινε αποδεκτή για μελέτη τοξικότητας. Λόγω των παραλλαγών στη γονοτοξικότητα μεταξύ των ειδών τρωκτικών χρησιμοποιείται η δοκιμή μικροπυρήνων ερυθροκυττάρων, επομένως μπορεί να θεωρηθεί ως περαιτέρω μελέτη μεθόδων *in-vitro*. Η βλάβη στα χρωμοσώματα ή στη μιτωτική διαδικασία των ερυθροβλαστών λόγω της ελεγχόμενης χημικής ουσίας εκτιμήθηκε με την αξιολόγηση του μικροπυρήνα που σχηματίζεται στα ερυθροκύτταρα του μυελού των οστών ή στα κύτταρα του περιφερειακού αίματος μικρών ζώων ή τρωκτικών.

Ο στόχος της μελέτης ήταν να δοκιμαστούν ουσίες που προκαλούν κυτταρογενετική βλάβη και σχηματισμό μικροπυρήνων που περιέχουν υστερόντα θραύσματα χρωμοσώματος ή ολόκληρο χρωμόσωμα. Το ανώριμο ερυθροκύτταρο χωρίς κύριο πυρήνα σχηματίστηκε από ερυθροβλάστες μυελού των οστών. Το ανώριμο ερυθροκύτταρο περιέχει μικροπυρήνες στο κυτταρόπλασμα, και η υψηλότερη συχνότητα τέτοιων ερυθροκυττάρων ήταν σημάδι δομικής ή αριθμητικής επαγωγής χρωμοσωμικής εκτροπής. Τα μικροπυρήνωμένα ερυθροκύτταρα χρωματίστηκαν και μετρήθηκαν για να συγκριθούν με τους ελέγχους. Ένας ή περισσότεροι θετικοί μάρτυρες ουσίες που χρησιμοποιήθηκαν στον θετικό έλεγχο, όπως αιθυλομεθανοσουλφονικός εστέρας, αιθυλική νιτροζουρία, μεθανοσουλφονικός μεθυλεστέρας, μιτομυκίνη, κυκλοφωσφαμίδη, κολχικίνη ή βινβλαστίνη (OECD, Test No. 474: Mammalian Erythrocyte Micronucleus Test, 2016).

2.6.9 Κυρίαρχη θανατηφόρα δοκιμή τρωκτιών

Οι μεταλλαξιγόνοι παράγοντες που επάγουν κληρονομικές κυρίαρχες θανατηφόρες μεταλλάξεις σε γεννητικά κύτταρα που οδηγούν σε εμβρυϊκό ή εμβρυϊκό θάνατο ελέγχονται σε αυτή τη μελέτη (OECD, Test No. 478: Rodent Dominant Lethal Test, 2015). Η απόφαση TG 478 του ΟΟΣΕ υιοθετήθηκε το 1984 και έγιναν επίσης ορισμένες τροποποιήσεις. Χρησιμοποιείται κυρίαρχη θανατηφόρα δοκιμή προσδιορίζουν την ουσία που προκαλεί μεταλλάξεις στα γεννητικά κύτταρα.

Οι κυρίαρχες θανατηφόρες μεταλλάξεις γενικά οδηγούν σε εμβρυϊκό ή εμβρυϊκό θάνατο και χρησιμοποιούνται για την πρόβλεψη γενετικών ασθενειών και ανθρώπινων κινδύνων που μεταδίδονται μέσω των γεννητικών γραμμών. Η δοκιμή είναι πολύ δαπανηρή και χρονοβόρα λόγω του υψηλού κόστους εργασίας και του μεγάλου αριθμού ζώων που χρησιμοποιούνται στη μελέτη.

Η κυρίαρχη θανατηφόρα μετάλλαξη ορίστηκε ως η μετάλλαξη που συνέβη σε γεννητικά κύτταρα ή πρώιμο έμβρυο και θανατηφόρα για τα γονιμοποιημένα ωάρια και το αναπτυσσόμενο έμβρυο (Ashby & Clapp, 1995).

Γενικά, τα αρσενικά ποντίκια που υποβλήθηκαν σε θεραπεία με δοκιμαστικές χημικές ουσίες ζευγαρώνουν με παρθένα θηλυκά που δεν είχαν λάβει καμία άλλη χημική ουσία στο παρελθόν. Μετά το ζευγάρωμα, τα θηλυκά υποβλήθηκαν σε ευθανασία και οι μήτρες εξετάστηκαν για εμφυτεύματα ζωντανών και νεκρών εμβρύων. Τα αποτελέσματα υπολογίστηκαν συγκρίνοντας ζωντανά και νεκρά εμφυτεύματα ανά θηλυκό στην ομάδα δοκιμής καθώς και στις ομάδες ελέγχου και υπολογίστηκε η απώλεια μετά την εμφύτευση. Μία ή περισσότερες θετικές ουσίες ελέγχου όπως τριαιθυλενομελαμίνη, κυκλοφωσφαμίδιο, μονομερές ακρυλαμίδιο, ή χλωραμβουκίλη χρησιμοποιήθηκαν. Οι πέντε ημερήσιες δόσεις χορηγήθηκαν και το ζευγάρωμα των ζώων εξασφαλίστηκε και μετρήθηκε για διαστήματα ζευγαρώματος, τα οποία μπορεί να είναι εβδομαδιαία. Κατά τη 13η ημέρα κύησης, το δεύτερο μισό της εγκυμοσύνης, τα θηλυκά υποβλήθηκαν σε ευθανασία και εξετάστηκαν οι μήτρες για κυρίαρχες θανατηφόρες επιπτώσεις (OECD, Test No. 478: Rodent Dominant Lethal Test, 2015).

2.6.10 Βραχυπρόθεσμες μελέτες τοξικότητας τρωκτικών

Πραγματοποιήθηκαν δοκιμές βραχυπρόθεσμης τοξικότητας σε τρωκτικά για την πρόβλεψη των δοκιμαστικών δόσεων ουσίας για μελέτη χρόνιας και υποχρόνιας τοξικότητας. Σύμφωνα με τις οδηγίες της μελέτης, τρωκτικά, συνήθως αρουραίοι ή ποντίκια οποιουδήποτε φύλου, χρησιμοποιήθηκαν για μελέτη. Τα ζώα ηλικίας 6 έως 8 εβδομάδων χωρίστηκαν σε ομάδες των 10 τρωκτικών ανά φύλο και ανά ομάδα.

Η θνησιμότητα στα πειραματόζωα δεν ήταν αποδεκτή και στην ομάδα ελέγχου δεν πρέπει να είναι μεγαλύτερη από 10%. Όχι περισσότερο από το 10% των ζώων έχασαν τους ιστούς ή τα όργανά τους λόγω αυτόλυσης σε ολόκληρη τη μελέτη. Η νεκροψία πρέπει να γίνει αμέσως μετά τη θυσία ή το θάνατο του ζώου. Η υπό δοκιμή ουσία μπορεί να χορηγηθεί στη δίαιτα ή να διαλυθεί στο πόσιμο νερό ή σε ενθυλάκωση/στοματική διασωλήνωση σε τουλάχιστον τρία επίπεδα δόσης.

Θα πρέπει να χορηγηθεί μία αρκετά υψηλή δόση για να προκαλέσει τοξικότητα. Δεύτερον, χαμηλή δόση στην οποία δεν αναφέρθηκε τοξικότητα. και τρίτον, πρέπει να είναι

μια ενδιάμεση δόση για να βρεθούν ελάχιστες τοξικές επιδράσεις. Για γενιά , η μέτρηση και η αξιολόγηση δεδομένων πρέπει να αναπτύσσονται, να επικυρώνονται και να διατηρούνται από ηλεκτρονικό σύστημα και σύμφωνα με την ορθή εργαστηριακή πρακτική Κατευθυντήριες γραμμές. Στον κλινικό έλεγχο, πραγματοποιήθηκαν οφθαλμολογική εξέταση, αιματολογική, κλινική χημεία, ανάλυση ούρων, νευροτοξικότητα και δοκιμασίες ανοσοτοξικότητας. Στη μικροσκοπική εξέταση, Γίνονται νέκρωση ιστών, βάρος οργάνων, μικροσκοπία ιστών και ιστοπαθολογικές εξετάσεις (Kumar, Singh, Sharma, & Kishore, 2019)

2.6.11 Μελέτες Υποχρόνιας Τοξικότητας τρωκτικών

Διεξήχθησαν μελέτες υποχρόνιας τοξικότητας για περισσότερο από 3 μήνες και χρησιμοποιήθηκαν για επιλογή δόσης για μελέτη χρόνιας και μακροχρόνιας τοξικότητας. Στη μελέτη χρησιμοποιήθηκαν περισσότεροι από αρουραίοι ηλικίας 6 έως 8 εβδομάδων ή ποντίκια οποιουδήποτε φύλου. Η δοκιμή πρέπει να έχει μικρότερη από 10% θνησιμότητα σε ομάδες ελέγχου ή δοκιμής και όχι μεγαλύτερη από 10% απώλεια ζώων και ιστών ή οργάνων λόγω αυτόλυσης.

Η νεκροψία ολοκληρώθηκε αμέσως μετά τη θανάτωση των ζώων για να ελαχιστοποιηθεί η αυτόλυση. Η ελεγχόμενη ουσία ή μείγμα πρέπει να είναι γνωστή και να έχει ρυθμιστικό αριθμό ή αριθμούς Chemical Abstract Service (CAS).

Οι παρατηρήσεις και οι κλινικές δοκιμές είναι οι ίδιες με τις βραχυπρόθεσμες μελέτες τοξικότητας, αλλά οι παράμετροι που ελήφθησαν υπόψη ήταν σε σημαντικό αριθμό. Στην κλινική χημεία, τουλάχιστον τρεις στους πέντε συγκεκριμένους καθοριστικούς παράγοντες της ηπατοκυτταρικής αξιολόγησης λαμβάνονται υπόψη, όπως η αμινοτρανσφεράση της αλανίνης, η ασπαρτική αμινοτρανσφεράση, αφυδρογονάση σορβιτόλης, αφυδρογονάση γλουταμικού και ολικά χολικά οξέα. Στην ηπατοχολική αξιολόγηση πραγματοποιείται εκτίμηση αλκαλικών φωσφορικών, χολερυθρίνης, γ-γλουταμυλ τρανσπεπτιδάσης, 50 νουκλεοτιδίων και ολικών χολικών οξέων. Στην ανάλυση ούρων, υπολογίζεται ο όγκος των ούρων, το ειδικό βάρος, το pH, η γλυκόζη και η πρωτεΐνη. Τα δεδομένα νευροτοξικότητας και ανοσοτοξικότητας αξιολογήθηκαν σε σημαντικό επίπεδο (Redbook, 2000).

2.6.12 Μελέτες Υποχρόνιας Τοξικότητας τρωκτικών

Διεξήχθησαν μελέτες υποχρόνιας τοξικότητας για περισσότερο από 3 μήνες και χρησιμοποιήθηκαν για επιλογή δόσης για μελέτη χρόνιας και μακροχρόνιας τοξικότητας. Στη μελέτη χρησιμοποιήθηκαν περισσότεροι από αρουραίοι ηλικίας 6 έως 8 εβδομάδων ή ποντίκια οποιουδήποτε φύλου. Η δοκιμή πρέπει να έχει μικρότερη από 10% θνησιμότητα σε ομάδες ελέγχου ή δοκιμής και όχι μεγαλύτερη από 10% απώλεια ζώων και ιστών ή οργάνων λόγω αυτόλυσης.

Η νεκροψία ολοκληρώθηκε αμέσως μετά τη θυσία των ζώων για να ελαχιστοποιηθεί η αυτόλυση. Η ελεγχόμενη ουσία ή μείγμα πρέπει να είναι γνωστή και να έχει ρυθμιστικό αριθμό ή αριθμούς Chemical Abstract Service (CAS). Οι παρατηρήσεις και οι κλινικές δοκιμές είναι οι ίδιες με τις βραχυπρόθεσμες μελέτες τοξικότητας, αλλά οι παράμετροι που ελήφθησαν υπόψη ήταν σε σημαντικό αριθμό. Στην κλινική χημεία, τουλάχιστον τρεις στους πέντε συγκεκριμένους καθοριστικούς παράγοντες της ηπατοκυτταρικής αξιολόγησης λαμβάνονται υπόψη, όπως η αμινοτρανσφεράση της αλανίνης, η ασπαρτική αμινοτρανσφεράση, αφυδρογονάση σορβιτόλης, αφυδρογονάση γλουταμικού και ολικά χολικά οξέα. Στην ηπατοχολική αξιολόγηση πραγματοποιείται εκτίμηση αλκαλικών φωσφορικών, χολερυθρίνης, γ-γλουταμυλ τρανσπεπτιδάσης, 50 νουκλεοτιδίων και ολικών χολικών οξέων. Στην ανάλυση ούρων, υπολογίζεται ο όγκος των ούρων, το ειδικό βάρος, το pH, η γλυκόζη και η πρωτεΐνη. Τα δεδομένα νευροτοξικότητας και ανοσοτοξικότητας αξιολογήθηκαν σε σημαντικό επίπεδο (Kumar, Singh, Sharma, & Kishore, 2019).

2.6.13 Αναγκη βελτίωσης στη μελετη τοξικότητας

Επί του παρόντος, η τοξικότητα των φαρμάκων, των αναλωσίμων, των χημικών ουσιών, των προσθέτων τροφίμων και των γεωργικών χημικών ουσιών αξιολογείται χρησιμοποιώντας πειραματόζωα με ορισμένες υποθέσεις και παρεκβολές. Ωστόσο, τέτοιες μελέτες είναι δαπανηρές και χρονοβόρες και παρέχουν δεδομένα ως επί το πλείστον σχετικά με δυσμενείς επιπτώσεις στην υγεία χωρίς πληροφορίες για βιολογικές αλλαγές λόγω τοξικών επιπτώσεων (Rovida, et al., 2015). Η βιολογία των συστημάτων του σώματος και οι τεχνολογίες ταχείας ανάλυσης, όπως ο αυτοαναλυτής και η βιοπληροφορική, βοηθούν τον ερευνητή να αναπτύξει νέες μεθόδους για δοκιμές τοξικότητας. Η EPA ζήτησε από το Εθνικό Συμβούλιο Έρευνας να αναπτύξει νέες ιδέες για μελέτες τοξικότητας με σύγχρονες

τεχνολογίες και νέα πρότυπα. Το Εθνικό Συμβούλιο Έρευνας σχημάτισε μια επιτροπή για τις δοκιμές τοξικότητας και η αξιολόγηση των περιβαλλοντικών παραγόντων πρότεινε ότι πριν υιοθετηθούν νέα πρωτόκολλα και στρατηγικές δοκιμές, πρέπει να υπάρχουν επικαλύψεις για την επαλήθευση των αποτελεσμάτων. Πρέπει να ληφθούν υπόψη το ενιαίο πρωτόκολλο δοκιμών, οι στρατηγικές και ο τρόπος δράσης των ελεγχόμενων χημικών ουσιών, ώστε να υπάρχει ανάγκη ανάπτυξης μεθόδων δοκιμών ειδικών για τις χημικές ουσίες. Κάθε τοξική μελέτη για ρυθμιστικούς σκοπούς πρέπει να θεωρήσει τη διαχείριση κινδύνου ως πρωταρχική ανάγκη (Krewski, Acosta, Andersen, Anderson, & Bailar3rd, 2010).

2.6.14 Νέες τεχνολογίες στις μελέτες τοξικότητας

Στις παρούσες μεθόδους μελετών τοξικότητας, ένα κοινό μειονέκτημα είναι η απουσία σχετικού μεταβολισμού φαρμάκων στον άνθρωπο (Bhushan, Martucci, Usta, & Yarmush, 2016). Οι νέες τεχνολογίες βελτιστοποιούν τη μελέτη τρωκτικών με ανθρώπινα βιολογικά συστήματα και παρέχουν περισσότερη προγνωστική αποτελεσματικότητα, ασφάλεια και είναι λιγότερο χρονοβόρα ενώ έχουν οικονομικά αποδοτικά δεδομένα τοξικότητας. Λόγω των σημαντικών προόδων στον τομέα της μοριακής βιολογίας, η βιοπληροφορική και η βιοτεχνολογία προσφέρουν νέες έννοιες ρυθμιστικής τοξικολογίας στην πράξη, η οποία μειώνει τη χρήση των ζώων σε μελέτες τοξικότητας (Vilet, 2011). Εξανθρωπισμένο μοντέλο ποντικού, στο οποίο ένα ή περισσότερα γονίδια ποντικού αντικαταστάθηκαν από ανθρώπινο γονίδιο, γνωστό ως γενετικά εξανθρωπισμένα ποντίκια, χρησιμοποιείται για τέτοιες μελέτες. Το ενσωματωμένο τμήμα του ανθρώπινου γονιδίου στο γονίδιο του ποντικού μεταφέρεται επίσης στην επόμενη γενιά μετά την αναπαραγωγή. Αυτά τα ποντίκια μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη μελέτη του μεταβολισμού των φαρμάκων και σε μελέτες τοξικότητας επειδή έχουν ορισμένους ξενοβιοτικούς υποδοχείς, μεταφορείς και κυτόχρωμα 450 όπως και οι άνθρωποι. Η τοξικότητα της ακεταμινοφαίνης και της 2-αμινο-1-αιθυλ-6-φαινυλιμιδαζο(4,5-b)πυριδίνης μελετήθηκε με εξανθρωπισμένο μοντέλο ποντικού (Bhushan, Martucci, Usta, & Yarmush, 2016). Τα *in-vitro* μικροφυσιολογικά κυτταρικά κατασκευάσματα μπορούν να χρησιμοποιηθούν για να μιμηθούν τη φυσιολογική δράση του ήπατος για φάρμακα και μεταβολίτες. Οι πολυοργανικές κατασκευές μπορούν επίσης να φανούν στο εγγύς μέλλον για κατασκευές κυττάρων ήπατος-εντέρου, ήπατος-δέρματος και ήπατος-νευροσφαίρας. Τα κύτταρα που προέρχονται από το iPS είναι επαγόμενα πολυδύναμα βλαστοκύτταρα που προέρχονται από κύτταρα που μοιάζουν με

ανθρώπινα ηπατοκύτταρα. Μπορούν να είναι ειδικά για τον ασθενή λόγω της άμεσης απομόνωσης των κυττάρων από τον ασθενή. Τέτοια κύτταρα για την καρδιά, τους νεφρούς και τον εγκέφαλο βρίσκονται σε διαδικασία ανάπτυξης (Ware, Berger, & Khetani, 2015). Πρωτογενείς μονοστιβαδικές κυτταρικές καλλιέργειες μπορούν να παρασκευαστούν από σαρκικά απομονωμένα κύτταρα εγκεφάλου, δέρματος, νεφρού και ήπατος, τα οποία εμφανίζουν τα ίδια μορφολογικά και βιοχημικά χαρακτηριστικά με τα αρχικά ζωικά ή ανθρώπινα κύτταρα. Αυτές οι καλλιέργειες μπορούν να χρησιμοποιηθούν για βιοχημική ανάλυση ή τεχνολογία απεικόνισης. Τα τρισδιάστατα μοντέλα κυτταροκαλλιέργειας έχουν βελτιωμένες λειτουργικές ιδιότητες (Vilet, 2011).

2.6.15 Υποβολή στοιχείων για έγκριση προσθέτων τροφίμων

Η Επιστημονική Επιτροπή για τα Τρόφιμα της Ευρωπαϊκής Αρχής για την Ασφάλεια των Τροφίμων παρέχει καθοδήγηση σχετικά με έγγραφα για έγκριση νέων προσθέτων τροφίμων ή τροποποιήσεις σε προηγούμενες εγκρίσεις. Τα έγγραφα εξουσιοδότησης περιέχουν δεδομένα σχετικά με την αναγνώριση της ελεγχόμενης ουσίας, τις ακαθαρσίες και τα υπολείμματα, όπως περιγράφονται από τον κατασκευαστή. Τα προηγούμενα δεδομένα διαχείρισης κινδύνου και οι εξουσιοδοτήσεις υποβλήθηκαν σε επεξεργασία στο παρελθόν για αυτό το πρόσθετο και θα εφαρμοστούν για τροποποιήσεις στην αδειοδότηση (ANS, 2012). Οι ηλικιακές ομάδες αναφέρουν λεπτομερώς τι χρησιμοποιήθηκε στα επεξεργασμένα τρόφιμα και τους προτεινόμενους χρήστες τροφίμων. Τα δεδομένα τοξικότητας και κινδύνου για την υγεία των προσθέτων αξιολογούνται με διάφορες μεθόδους με συγκεκριμένα πρότυπα που χρησιμοποιούνται για τη διεξαγωγή μελετών τοξικότητας. Το τυπικό αρχείο εγγράφων για μια νέα έγκριση ή τροποποιήσεις σε ήδη εγκεκριμένα πρόσθετα διατάσσονται με τη σειρά, όπως, πρώτον, η χημεία και οι προδιαγραφές των προτεινόμενων πρόσθετων, η υπάρχουσα εξουσιοδότηση και τα προηγουμένως αξιολογημένα δεδομένα τοξικότητας, εάν εφαρμοστούν. Οι προτεινόμενοι χρήστες και οι ηλικιακές ομάδες για τις οποίες τα παρασκευάσματα τροφίμων θα υποστούν επεξεργασία με τη χρήση δοκιμαστικών πρόσθετων προέρχονται από την ποσότητα του πληθυσμού που θα εκτεθεί σε αυτά στο μέλλον. Τέλος, δεδομένα τοξικολογικών μελετών σε μορφή πίνακα και στατιστικά αναλυμένα δεδομένα με λεπτομέρειες μεθόδων χρησιμοποιούνται για την αξιολόγηση διαφορετικών τύπων τοξικότητων (ANS, 2012).

Κεφάλαιο 3: Ανάλυση Επικινδυνότητας

Ο προσδιορισμός των κατάλληλων χρήσεων και συγκεντρώσεων των πρόσθετων που επιτρέπονται στα τρόφιμα μπορεί να είναι μια πολύπλοκη διαδικασία. Άμεσα ή έμμεσα προστιθέμενα πρόσθετα μπορεί να έχουν αποδεδειγμένη χρησιμότητα για τον επεξεργαστή τροφίμων ή τον καταναλωτή, αλλά μπορεί επίσης να έχουν επιβλαβείς τοξικολογικές επιπτώσεις όταν καταναλώνονται σε υπερβολικές ποσότητες ή από ευαίσθητες ομάδες πληθυσμού. Για να προσδιοριστεί εάν ένα πρόσθετο τροφίμων μπορεί να αποτελέσει κίνδυνο για την υγεία του καταναλωτή, πρέπει να εκτιμηθεί η εγγενής τοξικότητα του πρόσθετου και η τυπική κατανάλωση ή έκθεση του καταναλωτή. Θα πρέπει να ληφθούν υπόψη τόσο η βραχυπρόθεσμη όσο και η ισόβια σωρευτική έκθεση, καθώς ορισμένες χρήσεις προσθέτων μπορεί να έχουν οξείες ή χρόνιες επιδράσεις, επιβλαβείς για την υγεία. Για αυτό το λόγο η προστασία ατόμων από τις πιθανές δυσμενείς επιπτώσεις αυτών των ουσιών, οφείλει να βρίσκεται πρώτη σε σημαντικότητα και θα πρέπει να πραγματοποιηθούν μελέτες για την αξιολόγηση του κινδύνου έκθεσης σε χημικά υπολείμματα. Τα βασικά συστατικά μιας εκτίμησης κινδύνου περιλαμβάνουν τον προσδιορισμό κινδύνου, την εκτίμηση δόσης-απόκρισης, την εκτίμηση της έκθεσης και τον χαρακτηρισμό κινδύνου (NRC, 1980; Winter & Francis, 1997). Ο προσδιορισμός κινδύνου είναι η διαδικασία κατά την οποία συγκεκριμένες χημικές ουσίες συνδέονται αιτιολογικά με την εμφάνιση ιδιαίτερων επιπτώσεων στην υγεία. Αυτά μπορεί να περιλαμβάνουν ασθένειες, γενετικές και αναπτυξιακές ανωμαλίες και αναπαραγωγικές ανωμαλίες. Επίσης, πρέπει να προσδιοριστεί εάν η κατανάλωση μιας χημικής ουσίας θα μπορούσε να οδηγήσει στην ανάπτυξη καρκίνου. Ο καρκίνος συνήθως αναπτύσσεται μετά από μακροχρόνια έκθεση σε μια καρκινογόνο ουσία. Άλλες δυσμενείς επιπτώσεις στην υγεία μπορεί να παρατηρηθούν μετά από βραχυπρόθεσμη ή υψηλού επιπέδου έκθεση σε ένα πρόσθετο. Με άλλα λόγια, η χρήση ορισμένων προσθέτων μπορεί να είναι επικίνδυνη μόνο όταν καταναλώνονται σε συγκεκριμένες ποσότητες. Η αξιολόγηση δόσης-απόκρισης χρησιμοποιείται για την πρόβλεψη της σχέσης μεταξύ της ανθρώπινης έκθεσης στη χημική ουσία και της πιθανότητας ανεπιθύμητων ενεργειών. Όσον αφορά τις καρκινογόνες ουσίες, θεωρείται ότι δεν υπάρχει κατώτατο όριο έκθεσης, πράγμα που σημαίνει ότι οι καρκινογόνες ουσίες μπορεί να είναι επικίνδυνες όταν καταναλώνονται σε οποιαδήποτε ποσότητα. Όσον αφορά τους μη καρκινογόνους κινδύνους, οι τοξικές επιδράσεις δεν

παρατηρούνται γενικά έως ότου επιτευχθεί μια ελάχιστη δόση ή ένα κατώφλι. Οι τοξικολογικές μελέτες μπορούν να σχεδιαστούν για να προσδιορίσουν τη δόση ακριβώς πάνω από το όριο όπου παρατηρούνται επιδράσεις (lowest observed effect level [LOEL]) και τη δόση ακριβώς κάτω από το όριο στο οποίο δεν παρατηρούνται επιδράσεις (no observed effect level [NOEL] ή καμία παρατηρούμενη ανεπιθύμητη ενέργεια επίπεδο επίδρασης (no observed adverse effect level)[NOAEL]). Η αξιολόγηση της έκθεσης είναι απαραίτητη για να προβλεφθεί η πιθανή ποσότητα έκθεσης του ανθρώπου σε ένα πρόσθετο. Για πολλά τρόφιμα και πρόσθετα τροφίμων μπορεί να είναι δύσκολο να προσδιοριστεί πόση ποσότητα μπορεί να καταναλωθεί από έναν συγκεκριμένο πληθυσμό και πώς η κατανάλωση ποικίλλει μεταξύ των ατόμων. Ορισμένες υποομάδες πληθυσμού μπορεί να εκτεθούν σε πολύ διαφορετικές ποσότητες προσθέτων τροφίμων. Τα πρότυπα κατανάλωσης τροφίμων ποικίλλουν σημαντικά λόγω της ηλικίας του καταναλωτή, του φύλου, της εθνικότητας, της κοινωνικοοικονομικής κατάστασης, της κατάστασης της υγείας κ.λπ. Επιπλέον, η ποσότητα των πρόσθετων που υπάρχουν σε ορισμένα τρόφιμα μπορεί να είναι γνωστή ή άγνωστη ή μπορεί να διαφέρει πολύ. Ενώ η συγκέντρωση πολλών προσθέτων τροφίμων μπορεί να είναι γνωστή ή σχετικά σταθερή, η ποσότητα των έμμεσων προσθέτων ή υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων που παραμένουν στα τρόφιμα κατά τη στιγμή της κατανάλωσης μπορεί να ποικίλλει σημαντικά και να είναι δύσκολο να προβλεφθεί. Ο χαρακτηρισμός του κινδύνου περιγράφει την προέλευση, το μέγεθος και τις αβεβαιότητες των εκτιμήσεων του κινδύνου για την υγεία. Οι εκτιμήσεις για την αξιολόγηση του συνολικού κινδύνου από τη χρήση ενός πρόσθετου τροφίμων πρέπει να περιλαμβάνουν εάν έχει συγκεκριμένες επικίνδυνες ιδιότητες, μια πρόβλεψη της πιθανότητας δυσμενών επιπτώσεων με βάση την έκθεση και μια εκτίμηση του ποσού της έκθεσης. Για τα μη καρκινογόνα, ο χαρακτηρισμός του κινδύνου συνήθως συσχετίζει την εκτιμώμενη έκθεση με την αποδεκτή ημερήσια πρόσληψη.

3.1 Συνοπτική επισκόπηση της βιβλιογραφίας

Το πρόβλημα της χρήσης συμπληρωμάτων διατροφής είναι πολύπλοκο και πολύπλευρο. Εξαιτίας του γεγονότος ότι τα συμπληρώματα διατροφής δεν είναι ιατρικά προϊόντα, υπόκεινται σε απλοποιημένη διαδικασία έγκρισης, η οποία στα περισσότερα περιπτώσεις δεν περιλαμβάνει κλινικές δοκιμές. Για τη συμμόρφωση με τους κανόνες είναι υπεύθυνοι οι υπεύθυνοι εστίασης, εμπορίου, κ.λπ. Την τελευταία δεκαετία, η γκάμα των

συμπληρωμάτων διατροφής έχει αυξηθεί σημαντικά. Πολλές ουσίες, αν ληφθούν σε, ειδικά σε συνδυασμό με άλλες παρόμοιες ουσίες, μπορεί να είναι επιβλαβές. Αυτό ισχύει ιδιαίτερα για ουσίες που είναι ικανές να συσσωρεύονται ή να μετασχηματίζονται στο σώμα από μη τοξική σε τοξική μορφή (Maleev et al., 2018; Smolyar, 2009). Στη περίπτωση συσσώρευσης υπάρχει πολύπλοκος δεσμός μεταξύ της βιολογικής δραστηριότητας της ουσίας, της δόσης, του ρυθμού της απόσυρσης από το σώμα και το μεσοδιάστημα εισόδου στο σώμα. Ως εκ τούτου, το θέμα της ασφάλειας των προσθέτων ήταν οξεία. Ο επείγων χαρακτήρας αυτού του προβλήματος αυξάνεται με την εξέταση του παράγοντα της διατροφικής πρόσληψης ανθρώπων διαφορετικών ηλικιών για το μεγαλύτερο μέρος της ζωής τους.

Μια έρευνα που διεξήχθη στις Ηνωμένες Πολιτείες έδειξε ότι πάνω από το 80% του πληθυσμού θεωρούν απαραίτητη τη μείωση της περιεκτικότητας σε λίπη, χοληστερόλη, παθογόνα, φυτοφάρμακα, και μόνο το 20% των ανθρώπων θέλει να περιορίσει τη χρήση συντηρητικών, πληρωτικών, ορμονών, αντιβιοτικών και σακχάρων. Αυτό έχει προκύψει παράδοξη κατάσταση λόγω παρεξηγήσεων από τον πληθυσμό σχετικά με την πιθανή βλάβη της υγείας ως αποτέλεσμα της συνεχούς χρήσης ενός συμπλέγματος από διάφορα συμπληρώματα διατροφής (Maleev et al., 2018). Διερευνήθηκε το γραμμικό εύρος της συσχέτισης της οπτικής πυκνότητας και της συγκέντρωση μεμονωμένων συνθετικών χρωστικών, ιδίως της ταρτραζίνης E102, του «indigo carmine» E132, το οποίο επιτρέπει τη διεξαγωγή ρητής ανάλυσης του περιεχομένου τους σε προϊόντα διατροφής (Maleev et al., 2018). Η βιβλιογραφία περιγράφει το σύνδρομο «Merckelsson-Rosenthal», τη νόσο του Quincke, τα οποία προκαλούνται από την ταρτραζίνη. Συγκεκριμένα, σε ένα από τα 10.000 άτομα, μετά τη χορήγηση του συμπληρώματος, εμφανίστηκαν ενδείξεις αλλεργικής αντίδρασης (Maleev et al., 2018).

3.2 Πραγματικοί Κίνδυνοι

Οι περισσότεροι τροφιμογενείς κίνδυνοι δεν συνδέονται με τα πρόσθετα τροφίμων. Οι Roberts (1981) και Wodicka (1977) έχουν κατηγοριοποιήσει τους κύριους κινδύνους που σχετίζονται με τα τρόφιμα, συμπεριλαμβανομένων των προσθέτων, σε πέντε ομάδες, ταξινομημένες κατά σειρά σπουδαιότητας: (1) τροφιμογενείς κίνδυνοι μικροβιακής προέλευσης, (2) διατροφικοί κίνδυνοι, (3) περιβαλλοντικοί κίνδυνοι ρύπων, (4) κίνδυνοι από τα τρόφιμα φυσικής προέλευσης και (5) κίνδυνοι τροφίμων και πρόσθετων χρωμάτων.

Ωστόσο στη συγκεκριμένη διατριβή το επίκεντρο είναι τα πρόσθετα οπότε και θα επικεντρωθούμε στους κινδύνους που υπόκεινται τα τρόφιμα με τη λανθασμένη χρήση τους. Συνεπώς κάτω από τους άλλους τέσσερις κινδύνους για τα τρόφιμα είναι ο κίνδυνος που προκύπτει από τα πρόσθετα τροφίμων. Τα συστατικά GRAS θα συμπεριληφθούν σε αυτήν την ταξινόμηση. Αν και τα συστατικά του GRAS δεν είναι νομικά πρόσθετα τροφίμων, το κοινό δεν αντιλαμβάνεται καμία διάκριση. Αυτή η κατηγορία περιλαμβάνει χιλιάδες ουσίες. Οποιοσδήποτε πιθανός κίνδυνος για τον άνθρωπο από ένα συγκεκριμένο πρόσθετο τροφίμων εξαρτάται από την τοξικότητα του προσθέτου τροφίμων και από την συγκέντρωση του προσθέτου. Στα είδη αλλαντοποιίας και κατά την επεξεργασία του κρέατος συχνό πρόσθετο θεωρείται το νιτρικό κάλιο και νάτριο. Το νιτρικό ιόν δεν θεωρείται τοξικό, αλλά τα νιτρικά άλατα που προστίθενται στα τρόφιμα μετατρέπονται σε νιτρώδη από κοινά βακτήρια στο στόμα και στο γαστρεντερικό σωλήνα και τα νιτρώδη ιόντα μπορούν να μετατραπούν σε νιτροζαμίνες, οι οποίες θεωρούνται καρκινογόνες. Ως εκ τούτου, τα νιτρώδη και νιτρικά πρόσθετα στο κρέας τα προϊόντα υπόκεινται σε περιορισμούς σε πολλές χώρες. Ωστόσο, οι οριακές τιμές διαφέρουν από χώρα σε χώρα. Από την άλλη πλευρά, θα πρέπει να ληφθεί υπόψη ότι οι αρχικές ποσότητες και των δύο συστατικών στα τρόφιμα μπορεί να διαφέρουν ανάλογα με τις συνθήκες αποθήκευσης. Τα τέσσερα πιο ευρέως χρησιμοποιούμενα άμεσα πρόσθετα τροφίμων, τα οποία αντιπροσωπεύουν το 93% κατά βάρος όλων των άμεσων πρόσθετων τροφίμων, είναι η σακχαρόζη, το αλάτι, το σιρόπι καλαμποκιού και η δεξτρόζη (Clydesdale, 1982; H. R. Roberts, 1981). Η έκθεση του ανθρώπου σε έμμεσα πρόσθετα είναι δύσκολο να μετρηθεί, αλλά αυτή η έκθεση είναι ελάχιστη. Τόσο ο Roberts (1981) όσο και ο Oser (1978) υπέθεσαν ότι το πρόβλημα με την αντίληψη του κοινού για τα πρόσθετα των τροφίμων είναι ότι αυτές οι τροφιμογενείς ουσίες πρέπει να αποδειχθούν "ασφαλείς". Είναι αδύνατο να διασφαλιστεί η πλήρης ασφάλεια οποιασδήποτε ουσίας για όλους τους ανθρώπους κάτω από όλες τις συνθήκες χρήσης. Επομένως, οποιαδήποτε αβεβαιότητα σχετικά με την ασφάλεια ενός πρόσθετου τροφίμων μπορεί να οδηγήσει στη δημόσια υποψία για πολύ μεγαλύτερο κίνδυνο. Το πρόσφατα εγκεκριμένο συστατικό olestra, ένα μη θερμιδικό υποκατάστατο λίπους, είναι μόνο ένα παράδειγμα όπου συνεχίζεται η συζήτηση σχετικά με την ασφάλεια της χρήσης του στα τρόφιμα. Εξίσου σημαντικό είναι το γεγονός ότι, το κοινό θεωρεί τα πρόσθετα τροφίμων και ορισμένα συστατικά GRAS ως περιττές πηγές κινδύνου

και για αυτό το λόγο τα οφέλη αυτών των συστατικών τροφίμων δεν εκτιμώνται ευρέως. Επίσης, αυτά τα συστατικά τροφίμων δεν θεωρούνται φυσικά συστατικά τροφίμων, γεγονός που αυξάνει τις υποψίες σε ορισμένους καταναλωτές. Δεδομένου ότι τα πρόσθετα μπορούν να αυξήσουν τόσο την ποσότητα όσο και την ποιότητα των τροφίμων, θα χρησιμοποιούνται πάντα. Ως εκ τούτου, ο FDA και η EFSA πρέπει να συνεχίσουν να επανεξετάζουν τη χρήση των προσθέτων τροφίμων προκειμένου να διασφαλίσουν την ασφάλεια των προσθέτων των τροφίμων.

Οι τοξικολογικές επιδράσεις των προσθέτων τροφίμων περιλαμβάνουν οξεία, υποξεία και χρόνια τοξικότητα, γονοτοξικότητα, αλλεργιογένεση και καρκινογένεση (Bateman et al., 2004). Μια μελέτη στο Ηνωμένο Βασίλειο στην οποία συμμετείχαν 1.873 τρίχρονα παιδιά βρήκε μια στατιστικά σημαντική επίδραση της υπερβολικής κατανάλωσης τεχνητών χρωμάτων και βενζοϊκού νατρίου στην ανάπτυξη διαταραχής ελλειμματικής προσοχής και υπερκινητικότητας (ΔΕΠΥ) σε προηγουμένως υγιή παιδιά (Paek & Hone, 2017).

Μια άλλη ομάδα Βρετανών ερευνητών κατέληξε σε παρόμοια συμπεράσματα σε μια τυχαίοποιημένη, διπλά τυφλή, ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο μελέτη 153 τρίχρονων και 144 οκτάχρονων και εννιάχρονων (McCann et al., 2007). Αν και οι περισσότερες μεταγενέστερες παρόμοιες μελέτες είχαν μη τυποποιημένη διάγνωση, αμφισβητήσιμη επιλογή δείγματος, ατελής τύφλωση και μη τυποποιημένα μέτρα έκβασης, οι χώρες της Ευρωπαϊκής Ένωσης έλαβαν την απόφαση για την υποχρεωτική επισήμανση τροφίμων που περιέχουν τεχνητά χρώματα (προειδοποίηση υπερκινητικότητας και προσοχής ελλειμματικής διαταραχής (Stevens et al., 2014).

Μελέτες από συγγραφείς από τις Ηνωμένες Πολιτείες έχουν βρει ότι τα εννέα χρώματα που επιτρέπονται είναι δυνητικά καρκινογόνα (το κόκκινο 40, το κίτρινο 5 και το κίτρινο 6 είναι μολυσμένα με βενζιδίνη ή άλλα καρκινογόνα), γονιδοτοξικά (κίτρινο 5), αλλεργιογόνα (μπλε 1, κόκκινο 40, κίτρινο 5 και κίτρινο 6) και τοξικό (κόκκινο εσπεριδοειδών 2) υγεία (Kobylewski & Jacobson, 2012). Κάποια από τα τεχνητά χρώματα έχουν κηρυχθεί παράνομα λόγω αποδεδειγμένης βλάβης στην ανθρώπινη υγεία (Kobylewski & Jacobson, 2012). Παρόλα αυτά, ένας σημαντικός αριθμός μελετών δείχνει υπέρβαση της αποδεκτής ημερήσιας πρόσληψης τεχνητών χρωμάτων, καθώς και παρουσία παράνομων χρωμάτων στη διατροφή (Gizaw, 2019). Νέα στοιχεία υποδεικνύουν ότι οι επιτρεπόμενοι διατροφικοί γαλακτωματοποιητές μπορεί να βλάψουν τη λειτουργία του

εντερικού φραγμού και να αυξήσουν την έκθεση σε αντιγόνο ή/και ρυθμιστικό μικροβίωμα, αυξάνοντας δυνητικά τη συχνότητα εμφάνισης της φλεγμονώδους νόσου του εντέρου (σύνδρομο ευερέθιστου εντέρου, νόσος του Crohn) και του μεταβολικού συνδρόμου (δυσανεξία στη γλυκόζη) (Partridge et al., 2019).

Μια ομάδα Ιάπωνων συγγραφέων βρήκαν ισχυρή συσχέτιση μεταξύ της κατανάλωσης γαλακτωματοποιητών (συμπεριλαμβανομένων των πολυσορβικών, σορβικών εστέρων και λεκιθίνης) και της συχνότητας εμφάνισης της νόσου του Crohn (C. L. Roberts et al., 2013). Ένας σημαντικός αριθμός μελετών έχει δείξει στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ γαλακτωματοποιητών γρήγορου φαγητού και μαργαρίνης με την ελκώδη κολίτιδα και τη νόσο Crohn (Persson et al., 1992). Η διατροφική λεκιθίνη, ή πιο συγκεκριμένα η φωσφατιδυλοχολίνη, έχει υποδειχθεί ως πιθανός παράγοντας κινδύνου για στεφανιαία νόσο (ως συνέπεια της μετατροπής της χολίνης στον προαθηρογονικό μεταβολίτη τριμεθυλαμίνη-N-οξειδίο) (Tang et al., 2013). Διυδροξυ χολικό οξύ με τη μεσολάβηση της αφυδροξυλίωσης της χολής (απώλεια της ομάδας 7α-υδρο-υδροξυλίου στον πυρήνα του χολικού άλατος) αυξάνει την πρόσληψη βακτηρίων στο ανθρώπινο κόλον (Miclote et al., 2020). Μια σημαντική αύξηση στο βακτηριακό δεοξυριβονουκλεϊκό οξύ στο αίμα επαληθεύτηκε σε ασθενείς με καρδιαγγειακή νόσο, τύπου 2 διαβήτη και νόσος του Crohn (Miclote et al., 2020). Η συγκέντρωση του βακτηριακού δεοξυριβονουκλεϊκού οξέος στο αίμα ασθενών με νόσο του Crohn είναι ένας σημαντικός προγνωστικός παράγοντας για μετέπειτα υποτροπές (Sood, 2014). Μια προοπτική δεκατετράχρονη μελέτη κοόρτης που διεξήχθη στη Γαλλία, στην οποία συμμετείχαν (Tarnavölygi, 2003). 118 γυναίκες, βρήκε μια στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ κατανάλωση τεχνητών γλυκαντικών και την ανάπτυξη σακχαρώδους διαβήτη τύπου 2 us Reví(Bruyère et al., 2015). Μια επταετής μελέτη στις Ηνωμένες Πολιτείες διαπίστωσε ότι η κατανάλωση περισσότερων από ένα τεχνητά ζαχαρούχων ποτών σχετίζεται με 36% υψηλότερο σχετικό κίνδυνο μεταβολικού συνδρόμου και 67% υψηλότερο σχετικό κίνδυνο διαβήτη τύπου 2 σε σύγκριση με τη μη κατανάλωση του ίδιου (Fagherazzi et al., 2013). Έρευνα από Ιάπωνες συγγραφείς έχει δώσει παρόμοια αποτελέσματα (Nettleton et al., 2009). Τα τεχνητά γλυκαντικά πιστεύεται ότι αυξάνουν την ηδονική επιθυμία για γλυκό και τροφές πλούσιες σε ενέργεια 38,39,40. Η κατανάλωση τεχνητά ζαχαρούχων ποτών και η συνακόλουθη υπερεκτίμηση του αριθμού των αποθηκευμένων θερμίδων έχει ως αποτέλεσμα την υπερβολική κατανάλωση άλλων τροφίμων / ποτών (Fagherazzi et al., 2013; Nettleton et al., 2009). Επιπλέον, η χρήση τους

αποτελεί πρώιμη επιβεβαίωση της ανεπιτυχούς διατήρησης βάρους 38,39,40. Μια πολλά υποσχόμενη εικοσιδυοετής μελέτη από Αμερικανούς συγγραφείς βρήκε μια στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ της συνολικής πρόσληψης ασπαρτάμης και της ανάπτυξης λεμφώματος non-Hodgkin και πολλαπλού μυελώματος στους άνδρες και λευχαιμίας σε άνδρες και γυναίκες (Sakurai et al., 2014). Μια μελέτη μοντέλου in vitro καθιέρωσε την αλληλεπίδραση της ασπαρτάμης και των μεταβολιτών της με το δεοξυριβονουκλεϊκό οξύ (Schernhammer et al., 2012). Η ασπαρτάμη μπορεί να προκαλέσει τη διάσπαση της αλυσίδας του δεοξυριβονουκλεϊκού οξέος στα κύτταρα του μυελού των οστών ποντικών 42. Ο μεταβολίτης της φορμαλδεΐδης μπορεί να προκαλέσει αύξηση στο λέμφωμα και τη λευχαιμία στους αρουραίους (Schernhammer et al., 2012). Ο ρυθμιστής οξύτητας, το συνθετικό κιτρικό οξύ είναι μια ζυμωμένη εκκένωση της μαύρης μούχλας *Aspergillus niger* (Sweis & Cressey, 2018). Πρωτεΐνες ή άλλα παραπροϊόντα του *Aspergillus niger* που παραμένουν σε κιτρικό οξύ μετά τη διαδικασία παρασκευής ή την εξαιρετικά συμπυκνωμένη συνθετική μορφή του ίδιου του κιτρικού οξέος με επαναλαμβανόμενη έκθεση οδηγεί στην ανάπτυξη προφλεγμονωδών κυτοκινών και/ή στο σχηματισμό αντισωμάτων κατά του *Aspergillus* (Sweis & Cressey, 2018).

3.3 Αντιληπτοί κίνδυνοι

Ο κίνδυνος συνεπάγεται την πιθανότητα βλάβης ή καταστροφής (μια απειλή που μπορεί να είναι προσωπική ή να απευθύνεται σε άτομα ή πράγματα που εκτιμούμε). Η πιθανότητα (μια αβέβαιη πτυχή του κινδύνου) σχετίζεται με διαφωνία σχετικά με το μέγεθος και τη σοβαρότητά του. Ερμηνεία και υποκειμενική εκτίμηση κινδύνου μέσω αντίληψη κινδύνου. Η αντίληψη κινδύνου έχει δύο συνιστώσες, τη γνωστική (γνώση και κατανόηση του κινδύνου) και τη συναισθηματική (συναισθήματα απέναντί του). Οι καταναλωτές γενικά αξιολογούν τον κίνδυνο σύμφωνα με την υποκειμενική αντίληψη, τη διαισθητική αξιολόγηση και τα συμπεράσματα από τα μέσα ενημέρωσης και από άλλες πηγές. Σε αποφάσεις που σχετίζονται με συγκεκριμένο κίνδυνο για την υγεία (όπως κίνδυνοι που σχετίζονται με πρόσθετα τροφίμων), τα πιο σημαντικά στοιχεία της αντίληψης κινδύνου είναι η αντιληπτή ευαισθησία, το αντιληπτό βάρος, το αντιληπτό όφελος και τα αντιληπτά εμπόδια. Η αντιληπτή ευαισθησία υποδηλώνει την πίστη στην ευπάθεια του ατόμου (ευαισθησία σε ασθένεια ή άλλο κίνδυνο για την υγεία).

Η αντιληπτή σοβαρότητα ορίζεται ως η αντίληψη της σοβαρότητας του πράκτορα στον κίνδυνο για την υγεία, δηλαδή τη δυνατότητα πρόκλησης αρνητικών σωματικών (θάνατος, αναπηρία, ασθένεια) ή/και κοινωνικών συνεπειών (αποξένωση, στίγμα, ντροπή). Αντιληπτό όφελος ορίζεται ως η πεποίθηση ότι η υπεύθυνη για την υγεία συμπεριφορά θα επιτρέψει τη διαχείριση του κινδύνου για την υγεία. Το αντιληπτό εμπόδιο ορίζει τον φόβο ότι η υιοθέτηση υγιούς υπεύθυνης συμπεριφοράς θα αποτραπεί από το κόστος ή τις αρνητικές πτυχές του ίδιου (Paek & Hone, 2017).

Λόγω διαφορετικών στρατηγικών και πόρων αξιολόγησης, η επιστημονική γνώμη και οι αντιλήψεις των λαϊκών ανθρώπων σχετικά με τον κίνδυνο των προσθέτων τροφίμων πολύ συχνά δεν ταιριάζουν. το κάνετε λόγω έλλειψης χρόνου ή κινήτρων 62. Όταν οι κίνδυνοι είναι άγνωστοι, οι καταναλωτές θα σχηματίσουν αξιολογήσεις χρησιμοποιώντας υποκειμενική αντίληψη, διαισθητική αξιολόγηση και συμπεράσματα από τα μέσα ενημέρωσης (Paek & Hone, 2017). Η μελέτη διεξήχθη στην Αυστραλία μεταξύ 572 μαθητών γυμνασίου ηλικίας 12 έως 15 ετών και εντόπισε χρωστικές και γλυκαντικές ουσίες για τα πιο αμφιλεγόμενα πρόσθετα τροφίμων, καθώς δεν είναι απαραίτητα για την ασφάλεια των τροφίμων ως συντηρητικά. έλλειψη επίγνωσης της νομοθεσίας που προηγείται της έγκρισης των προσθέτων τροφίμων, γεγονός που θα μπορούσε να οδηγήσει τους καταναλωτές να υπερεκτιμήσουν την αβεβαιότητα σχετικά με την εκτίμηση κινδύνου (Bearth et al., 2014). Σε αυτό συμβάλλουν πολυάριθμες, αλλά όχι πάντα αξιόπιστες, έντυπες και ηλεκτρονικές πληροφορίες μέσω ενημέρωσης. των προσθέτων τροφίμων στην Κίνα έχει θέσει σε κίνδυνο την ορθολογική κατανόηση της ασφάλειας των τροφίμων και επιδεινώνει την αντίληψη του κινδύνου (Zhong et al., 2018).

Μια έρευνα από μια ομάδα Δανών συγγραφέων διαπίστωσε ότι η συντριπτική πλειοψηφία των ερωτηθέντων, το 95%, πιστεύει ότι πολλά ή σχεδόν όλα τα προϊόντα περιέχουν πρόσθετα επεξεργασίας (Bearth et al., 2014). Όσον αφορά την επισήμανση των προσθέτων τροφίμων, το 65% των ερωτηθέντων πιστεύει ότι υπάρχει ανάγκη για επισήμανση, αλλά μόνο το 15% (κάθε εβδομη ondent) πιστεύουν στα οφέλη του (Christensen et al., 2011). Περίπου το 15% σκέφτεται συχνά τα πρόσθετα τροφίμων όταν αγοράζει τρόφιμα, σχεδόν το 40% σκέφτεται κάθε φορά που αγοράζει φαγητό, το 15% ποτέ δεν σκέφτεται, ενώ το 30% σκέφτεται όταν αναφέρονται από τα μέσα ενημέρωσης (Christensen et al., 2011). Περίπου 25 % των ερωτηθέντων πιστεύει ότι είναι εύκολο να εκτιμηθεί ο κίνδυνος χρήσης προσθέτων τροφίμων, ενώ το 55% δεν πιστεύει ότι δεν είναι

τόσο 65. Σχεδόν το 40% των ερωτηθέντων προσπαθεί να αποφύγει τις χρωστικές, το 30% τα γλυκαντικά, ενώ το 15% προσπαθεί να αποφύγει όλα τα πρόσθετα τροφίμων (Christensen et al., 2011). Περίπου το 30% των ερωτηθέντων πιστεύει ότι τα πρόσθετα τροφίμων χρησιμεύουν για την κάλυψη της κακής ποιότητας προϊόντων, το 20% δεν πιστεύει τις αξιολογήσεις κινδύνου για την ασφάλεια, το 15% πιστεύει ότι τα πρόσθετα τροφίμων αυξάνουν τα κέρδη για τις μεγάλες εταιρείες, το 75% συμφωνεί εν μέρει ή πλήρως ότι τα τρόφιμα τα πρόσθετα προκαλούν αλλεργίες, το 70% συμφωνεί εν μέρει ή πλήρως ότι είναι η αιτία ορμονικών διαταραχών, το 60% των ερωτηθέντων πιστεύει ότι είναι καρκινογόνα, ενώ το 40% των ερωτηθέντων τα συνδέει με στειρότητα, παχυσαρκία και υπερκινητικότητα στα παιδιά (Christensen et al., 2011).

Μια μελέτη από Ούγγροι συγγραφείς βρήκαν ότι Οι περισσότεροι ερωτηθέντες έχουν αρνητικό αίσθημα για τα πρόσθετα τροφίμων (Christensen et al., 2011). Αν και κατανοούν ότι πρόκειται για ουσίες που έχουν κάποια τεχνολογικές λειτουργίες, πιστεύουν ότι το κύριο καθήκον τους είναι να αυξάνουν τα κέρδη για τους παραγωγούς τροφίμων (Tarnavölgyi, 2003). Αν και υποθέτουν ότι υπάρχουν κανονισμοί για την ασφάλεια των τροφίμων, αμφιβάλουν για την αποτελεσματικότητά τους (Mfueni et al., 2018). Πιστεύουν ότι οι ρυθμιστικές αρχές δεν έχουν αρκετά χρήματα και ότι η περίοδος δοκιμών είναι πολύ σύντομη (Tarnavölgyi, 2003). Έρευνα στο ΗΒ δείχνει ότι ένας σημαντικός αριθμός Οι καταναλωτές πιστεύουν ότι η χρήση προσθέτων τροφίμων σχετίζεται με την ανάπτυξη αλλεργιών (44%) και υπερκινητικότητας (24%) (Ismail & Yusuf, 2014). Οι αντιληπτοί κίνδυνοι για την υγεία που συνδέονται με την κατανάλωση πρόσθετων τροφίμων περιλαμβάνουν την υπερκινητικότητα των Κινέζων καταναλωτών, την ανάπτυξη αλλεργιών, το άσθμα, το σανό πυρετός και καρκίνος (Wu et al., 2013). Δεύτερον, μια ομάδα ερευνητών στο Ηνωμένο Βασίλειο επεσήμανε την κακή γνώση των πρόσθετων τροφίμων από τους καταναλωτές (περίπου 65% από όλους τους ερωτηθέντες δεν είχαν ελέγξει ποτέ τα πρόσθετα τροφίμων στις ετικέτες των τροφίμων) (Kouyratty et al., 2014). Μελέτες από Ολλανδούς συγγραφείς διαπίστωσαν ότι η χαμηλή αξιοπιστία στη βιομηχανία τροφίμων και η επικράτηση αρνητικών πληροφοριών σχετικά με τα πρόσθετα τροφίμων στο Διαδίκτυο και στα κοινωνικά δίκτυα είναι οι κύριες αιτίες υψηλού κινδύνου αντίληψη (van Gunst & Roodenburg, 2019). Μια σειρά σκανδάλων στην Ταϊβάν που περιλαμβάνει την προσθήκη παράνομων προσθέτων τροφίμων, τα οποία οδήγησαν σε υψηλές αντιλήψεις κινδύνου στον πληθυσμό και κατά συνέπεια στην απόρριψη τροφίμων που περιέχουν χημικά

πρόσθετα. ορισμός ενός πρόσθετου τροφίμων (Pimenta, 2003). Το 87% από αυτούς τα θεώρησε επιβλαβή για την υγεία (Tarnavölgyi, 2003). Το ίδιο προφίλ καταγράφηκε μεταξύ φοιτητών και ασθενών. τον κίνδυνο τους (Song & Schwarz, 2009). Τα πρόσθετα τροφίμων των οποίων τα ονόματα είναι πιο δύσκολο να προφέρονται θεωρούνται συνήθως νέα ή λιγότερο γνωστά και επιβλαβή για την υγεία. του ονόματος του πρόσθετου τροφίμων (Bahnik & Vranka, 2017).

3.4 Ωφέλη

Τα οφέλη που προκύπτουν στην αλυσίδα τροφίμων γενικά εμπίπτουν σε τέσσερις κατηγορίες: (1) οφέλη για την υγεία που μειώνουν κάποιο κίνδυνο για την υγεία ή παρέχουν κάποια οφέλη για την υγεία, όπως βελτιωμένη διατροφική αξία, (2) οφέλη από την προσφορά που σχετίζονται με την αφθονία, την ποικιλομορφία και την οικονομική διαθεσιμότητα, (3) ηδονικά οφέλη που παρέχουν αισθητηριακή ικανοποίηση και (4) οφέλη που οδηγούν σε αυξημένη ευκολία.

Τα πρόσθετα τροφίμων μπορούν να διαδραματίσουν σημαντικό ρόλο σε καθεμία από αυτές τις κατηγορίες οφελών βελτιώνοντας την υγεία, αυξάνοντας την προσφορά, ενισχύοντας την ελκυστικότητα ή βελτιώνοντας την ευκολία. Συγκριτικά, τα οφέλη για την υγεία θα πρέπει να λαμβάνονται περισσότερο υπόψη, ενώ τα οφέλη από την αυξημένη προσφορά βρίσκονται στην δεύτερη θέση ενώ η αυξημένη ευκολία και η βελτιωμένη ελκυστικότητα είναι τα λιγότερο σημαντικά. Τα οφέλη για την υγεία μπορεί να διαχωριστούν σε δύο τύπους από όπου μπορούν να παρέχονται από τα πρόσθετα τροφίμων και άλλα συστατικά τροφίμων: αυτά που αποτρέπουν ή μειώνουν τη συχνότητα εμφάνισης συγκεκριμένων ασθενειών και αυτά που παρέχουν ενισχυμένη διατροφική αξία. Συγκεκριμένα το νιτρικό νάτριο/E251 ή νιτρικό κάλιο/E252 και νιτρώδες νάτριο/E250 ή νιτρώδες κάλιο/E249 προστίθενται σε προϊόντα αλλαντοποιίας και επεξεργασμένο κρέας για την αναστολή της ανάπτυξης μικροοργανισμών, ιδίως του *Clostridium botulinum*, που είναι η αιτία της αλλαντίασης, μιας σπάνιας αλλά σοβαρής ασθένειας. Τελευταία, υπάρχει αυξανόμενο επιστημονικό και ιατρικό ενδιαφέρον για τα οφέλη των διατροφικών νιτρωδών και νιτρικών αλάτων. Σε πολλές ιατρικές μελέτες τα τελευταία χρόνια, τα διατροφικά νιτρώδες και νιτρικά άλατα έχουν καρδιαγγειακά προστατευτικά αποτελέσματα. Τόσο in vivo όσο και in vitro μελέτες δείχνουν ότι τα νιτρικά άλατα έχουν παρόμοια επίδραση με αυτή του μονοξειδίου του αζώτου (NO) στη μείωση της αρτηριακής πίεσης, του γαστρικού

τραυματισμού και της αιμορραγίας, μέσω της σταδιακής χημικής μείωσης των νιτρικών στα νιτρώδη και, τέλος, στο μονοξείδιο του αζώτου. Έχει αποδειχθεί ότι η κατανάλωση λαχανικών που περιέχουν νιτρικά άλατα μείωσε συχνά τον κίνδυνο υπέρτασης στους ενήλικες. Επιπλέον, ορισμένες νέες επιδημιολογικές μελέτες απορρίπτουν τη συσχέτιση μεταξύ της κατανάλωσης νιτρωδών και νιτρικών αλάτων και του καρκίνου του στομάχου. Τα θρεπτικά οφέλη προκύπτουν κυρίως από την παρουσία ή την προσθήκη θρεπτικών συστατικών όπως αναφέρθηκε προηγουμένως στο παράδειγμα. Η διατροφική υγιεινή αυξάνεται με τον εμπλουτισμό ορισμένων βασικών τροφίμων, όπως το ψωμί, το γάλα και το αλάτι, με βιταμίνες και μέταλλα. Ο εμπλουτισμός με βιταμίνες και μέταλλα θα μπορούσε να θεωρηθεί ως πρόληψη μερικών ασθενειών ανεπάρκειας όπως το σκορβούτο, το beriberi ή την βρογχοκήλη. Φυσικά, ο υπερβολικός εμπλουτισμός των τροφίμων με ορισμένα θρεπτικά συστατικά μπορεί να αυξήσει τους κινδύνους όπως θα αναφερθεί στο κεφάλαιο των κινδύνων. Τα οφέλη της προσφοράς ενισχύονται επίσης από τη χρήση συστατικών τροφίμων που εμποδίζουν την αλλοίωση των τροφίμων, αυξάνουν την απόδοση των τεχνικών επεξεργασίας ή παρέχουν νέες πηγές για τις επιθυμητές λειτουργίες. Τα συντηρητικά εμποδίζουν την αλλοίωση των τροφίμων και έτσι αυξάνουν την προσφορά και μειώνουν το κόστος. Τα συντηρητικά έχουν και έμμεσα οφέλη για την υγεία προστατεύοντας τα θρεπτικά συστατικά, αποτρέποντας την ανάπτυξη επικίνδυνων μικροβίων και συμβάλλοντας στη διασφάλιση της διαθεσιμότητας άφθονων και θρεπτικών τροφίμων. Το 1999 η Υπηρεσία Τροφίμων και Φαρμάκων των Η.Π.Α. ανακοίνωσε ότι θα παρείχε μια ταχεία αναθεώρηση μιας νέας αίτησης για πρόσθετα τροφίμων εάν το πρόσθετο προορίζεται να μειώσει σημαντικά τους τροφιμογενείς παθογόνους οργανισμούς του ανθρώπου ή τις τοξίνες τους. Τα ηδονικά οφέλη περιλαμβάνουν βελτιωμένο χρώμα, γεύση και υφή για ενίσχυση της ελκυστικότητας των καταναλωτών. Για παράδειγμα, τα νιτρώδη δίνουν το τυπικό κοκκινωπό χρώμα και γεύση στο επεξεργασμένο κρέας. Τα οφέλη ευκολίας προκύπτουν από εκείνα τα συστατικά των τροφίμων που έχουν ως αποτέλεσμα την εξοικονόμηση χρόνου κατά την προετοιμασία. Αυτά τα οφέλη συνήθως αποκτούν μεγαλύτερη σημασία στις εύπορες κοινωνίες.

3.5 Η αντιμετώπιση των προσθέτων από το καταναλωτικό κοινό

Ανησυχία για τα πρόσθετα τροφίμων εκφράζεται από ένα σχετικά μικρό ποσοστό των καταναλωτών των Η.Π.Α, η οποία ελαττώνεται από 36% το 1987 σε 21% το 1997. Μεταξύ

των ευρωπαϊκών καταναλωτών, ο τεχνητός χρωματισμός θεωρείται πολύ επικίνδυνος από το 39% των καταναλωτών, ενώ τα πρόσθετα και τα συντηρητικά από το 31%. Όταν ζητείται από τους καταναλωτές να υποβάλουν εθελοντικά την γνώμη τους για την ασφάλεια των τροφίμων, η πιο συχνά αναφερόμενη απάντηση αφορά τα βακτήρια, η οποία αναφέρθηκε από το 69% των καταναλωτών το 1997. Τα πρόσθετα, τα συντηρητικά και τα τεχνητά χρώματα απαντήθηκαν ως κίνδυνος από μόλις το 1% ή λιγότερο των εθελοντών. Η ανταπόκριση των καταναλωτών στα πρόσθετα μπορεί επίσης να σχετίζεται με την αντιληπτή ποιότητα. Πάνω από το 75% των καταναλωτών ανέφεραν ότι οι τεχνητές γεύσεις δίνουν στα τρόφιμα πιο φτωχή γεύση από τις φυσικές γεύσεις (Zibrik, D; Peters, H; Kuhnlein, 1981). Σχεδόν το 70% των καταναλωτών απέδωσε καλύτερη ποιότητα στις φυσικές γεύσεις (McNutt et al., 1986). Οι καταναλωτές φαίνεται να μην γνωρίζουν τα πιθανά οφέλη από τα πρόσθετα. Περισσότερο από το 80% των Καναδών καταναλωτών που ερωτήθηκαν το 1978 θεώρησαν ότι τα χρώματα των τροφίμων ήταν περιττά και πίστευαν ότι τα πρόσθετα καθιστούν τα τρόφιμα λιγότερο ασφαλή (Zibrik, D; Peters, H; Kuhnlein, 1981). Ο Sloan και οι συνεργάτες του πιστεύουν ότι οι καταναλωτές θα αποδεχθούν ένα προϊόν εάν τα οφέλη υπερτερούν των μειονεκτημάτων και οι πιθανοί κίνδυνοι είναι μικροί (Sloan et al., 1986).

Οι ιδιότητες των τροφίμων ως προς την ποιότητα και την ασφάλειά τους είναι ένα ιδιαίτερο προϊόν και επομένως είναι δύσκολο να προσδιοριστούν πριν από την κατανάλωση. Με βάση τέτοιες ιδιότητες, η έννοια της ασφάλειας των τροφίμων Η αντίληψη κινδύνου υποδηλώνει τη συνειδητοποίηση των πιθανών κινδύνων ή κινδύνων της ποιότητας και της ασφάλειας των τροφίμων και τη διαδικασία κρίσης σχετικά με τις σοβαρές συνέπειες των πληροφοριών και την πιθανότητα και την έκταση της αποδοχής τους από το ευρύ κοινό (Slovic et al., 1980). Αν και είναι δύσκολο να παρατηρηθεί άμεσα η αντίληψη κινδύνου για την ασφάλεια των τροφίμων, η αντίληψη κινδύνου των καταναλωτών για ένα συγκεκριμένο είδος τροφίμου θα επηρέαζε τις προτιμήσεις τους στα τρόφιμα και θα καθόριζε την προθυμία τους να πληρώσουν (WTP) (Angulo & Gil, 2007). Έτσι, η αντίληψη του κινδύνου για την ασφάλεια των τροφίμων έχει μεγάλες συνέπειες για το WTP των καταναλωτών. Δεδομένου ότι η αντίληψη των καταναλωτών για τους κινδύνους για την ασφάλεια των τροφίμων θα μπορούσε να μειώσει το επίπεδο χρησιμότητας ενός τυπικού τροφίμου, απαιτείται ένα ορισμένο ποσό αποζημίωσης για να αντισταθμιστεί η αντίστοιχη απώλεια αξίας (Wood & Scheer, 1996). Κατά συνέπεια, το WTA

είναι καλύτερο από το WTP για να ποσοτικοποιήσει την προτίμηση των καταναλωτών για επικίνδυνα τρόφιμα και να συναγάγει την αντίληψή τους για την ασφάλεια των τροφίμων (Tolman, 1932). Επιπλέον, σε σύγκριση με το WTP, το WTA είναι λιγότερο επιρρεπές στην επίδραση υποκειμενικών τιμών και πιο ευαίσθητο. Έτσι, αντιστοιχεί γρήγορα στην τιμή αγκύρωσης της αγοράς (Η άγκυρα της τιμής της αγοράς είναι το σημείο αναφοράς για τους καταναλωτές όταν πρέπει να εκτιμήσουν την αξία ενός εμπορεύματος. Όσον αφορά το WTA, οι καταναλωτές είναι πιο πιθανό να θεωρήσουν την τιμή αγοράς ως σημείο αναφοράς για την εκτιμώμενη τιμή) (Simonson & Drolet, 2004). Ορισμένες μελέτες για το WTA των καταναλωτών έχουν εξετάσει την επίδραση της αντίληψης κινδύνου των καταναλωτών.

Κεφάλαιο 4: Μελλοντικές βλέψεις και υγεία

4.1 Διοξείδιο του τιτανίου

Η χρήση τεχνολογικών προσθέτων τροφίμων αποτελεί επί του παρόντος αντικείμενο διαμάχης σχετικά με τις πιθανές επιπτώσεις που μπορεί να έχουν στην ανθρώπινη υγεία. Σε αυτή την εργασία, εστιάζουμε στο διοξείδιο του τιτανίου (TiO₂) και πιο συγκεκριμένα στη χρήση του ως πρόσθετο τροφίμων. Η Γαλλία είναι η πρώτη ευρωπαϊκή χώρα που ανέστειλε για ένα έτος, αρχής γενομένης από την 1η Ιανουαρίου 2020, τη διάθεση στην αγορά τροφίμων που περιέχουν το πρόσθετο E171 (Adeolu et al., 2016). Χρησιμοποιείται συνήθως ως λευκαντικός και λαμπρυντικός παράγοντας στη ζαχαροπλαστική (καραμέλες και τσίχλες), σε λευκές σάλτσες και γλάσο (Bettini et al., 2017). Για να λειτουργήσει ως λευκαντικός παράγοντας, η κατανομή μεγέθους αναμένεται να επικεντρωθεί σε ένα μέσο μέγεθος 250 nm για να επιτευχθεί το βέλτιστο αποτέλεσμα. Επομένως, το E171 δεν πρέπει να περιέχει νανοσωματίδια (NPs) για να επιτευχθεί το βέλτιστο αποτέλεσμα. Ωστόσο, δεδομένα από τη βιβλιογραφία έδειξαν ότι η αναλογία των σωματιδίων που θεωρούνται NPs σε ορισμένα δείγματα E171 μπορεί να ποικίλλει από 0 έως 39 % κατά αριθμό και από 0 έως 3,2 % κατά μάζα (EFSA, 2016). Αυτό δημιουργεί μια αβεβαιότητα σχετικά με την εξέταση του E171 ως νανοϋλικού. Στην πραγματικότητα, σύμφωνα με το περιεχόμενό του σε NP και με τον ορισμό της Ευρωπαϊκής Επιτροπής για τα νανοϋλικά (2011/696/EE), το E171 δεν μπορεί να θεωρηθεί ως νανοϋλικό. Αλλά σύμφωνα με άλλους κανονισμούς, η ύπαρξη NP, όποια και αν είναι η ποσότητα, θα πρέπει να αναγράφεται στα προϊόντα.

Το κύριο κεντρικό στοιχείο της διαμάχης συνδέεται με το γεγονός ότι το E171 περιέχει νανοσωματίδια και με τις επιπτώσεις των νανοσωματιδίων που χρησιμοποιούνται στα τρόφιμα στην υγεία. Ορισμένα νανοσωματίδια υπάρχουν στα τρόφιμα στη φυσική τους κατάσταση ή μπορεί να παράγονται σκόπιμα, ενώ τα νανοσωματίδια μπορεί να δημιουργηθούν ακούσια ως αποτέλεσμα των διαδικασιών παραγωγής. Αυτό συμβαίνει με το TiO₂ (E171), όπου τα νανοσωματίδια παράγονται γενικά με τη λεγόμενη διαδικασία παραγωγής «από πάνω προς τα κάτω», η οποία συνίσταται στην εξαγωγή της ουσίας από ένα μέταλλευμα και στη συνέχεια στη μείωση σε σκόνη στο επιθυμητό μέγεθος (Houdeau et al., 2018)

Η χρήση των νανοτεχνολογιών έχει αναπτυχθεί σε πολλούς τομείς τα τελευταία τριάντα χρόνια (ηλεκτρονική, αεροναυπηγική, ιατρική, γεωργία, βιομηχανία τροφίμων). Στη βιομηχανία τροφίμων και στους τομείς της συσκευασίας, η έρευνα επικεντρώνεται στον

ρόλο τους στη βελτίωση της συντήρησης των προϊόντων, στην υγειονομική τους ποιότητα ή στη διατήρηση των οργανοληπτικών ιδιοτήτων των τροφίμων. Σύμφωνα με τους He και Hwang (2016), μπορούν να προστατεύσουν από τη βιολογική φθορά (αντιμικροβιακά, αυξανόμενη βιοδιαθεσιμότητα), να προστατεύσουν από χημικά συστατικά (αντιοξειδωτικά, γεύση), να ενισχύσουν τις φυσικές ιδιότητες (χρωματικά πρόσθετα, αντιπηκτικά). Στη συνέχεια θα ήταν χρήσιμα για στοχευμένη σίτιση (άρρωστοι, ηλικιωμένοι, αθλητές). Μπορούν επίσης να ενισχύσουν τις φυσικές και μηχανικές ιδιότητες της συσκευασίας.

Ωστόσο, υπάρχουν πιθανοί κίνδυνοι από τις νανοτεχνολογίες στη βιομηχανία τροφίμων (He & Hwang, 2016). Οι κίνδυνοι αυτοί αφορούν την υγεία και το περιβάλλον. Εστιάζουμε εδώ σε πιθανές επιπτώσεις στην υγεία. Ένας από τους κινδύνους αφορά τη διαδρομή των νανοϋλικών μέσω του ανθρώπινου σώματος, μετά την κατάποση, και την πρόσβασή τους σε διάφορα όργανα μέσω του εντερικού φραγμού, των κυττάρων, των αιμοφόρων αγγείων και των πνευμονικών οδών (Ministère de l'agriculture et de l'alimentation (MAA, 2018 Σύμφωνα με τους Houdeau et al. (2018), η επίδραση του μεγέθους επιτρέπει σε αυτούς τους παράγοντες να περάσουν μέσα από βιολογικούς φραγμούς και να διαχυθούν στο σώμα, έως ότου συσσωρευτούν σε συστηματικά όργανα (ήπαρ, σπλήνες, γονάδες κ.λπ.) και μέχρι το έμβρυο, όπου η υψηλή χημική τους αντιδραστικότητα μπορεί να είναι πηγή τοξικότητας. Οι μελέτες επικεντρώνονται στην επίδραση των νανοσωματιδίων στην εντερική μικροχλωρίδα, στο εντερικό ανοσοποιητικό σύστημα και στον κίνδυνο καρκινογένεσης του παχέος εντέρου (Houdeau et al., 2018).

Όσον αφορά τον κίνδυνο καρκίνου, όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, για την επαγγελματική έκθεση στον αέρα, η IARC έχει ήδη ταξινομήσει το TiO₂ ως πιθανό καρκινογόνο (κατηγορία 2B) στους ανθρώπους σε πνευμονικό επίπεδο. Υπάρχουν λιγότερα δεδομένα για την στοματική οδό. Το 2017, η μελέτη των Bettini et al. (2017) έδειξε ένα αρχικό αποτέλεσμα (δηλαδή αυθόρμητη ανάπτυξη) των πρώτων σταδίων της καρκινογένεσης του παχέος εντέρου σε σχεδόν 40 % των αρουραίων που εκτέθηκαν για 100 ημέρες στην E171 σε χαμηλή δόση, αντιπροσωπευτική της ανθρώπινης έκθεσης, καθώς και μια επίδραση προαγωγέα σε υπάρχουσες προκαρκινικές αλλοιώσεις (Houdeau et al., 2018).



Εικόνα 1: Διοξείδιο του Τιτανίου

4.2 Τεχνητά γλυκαντικά

Τα τεχνητά γλυκαντικά είναι ένα από τα πιο ευρέως χρησιμοποιούμενα πρόσθετα τροφίμων στον κόσμο. Λόγω των χαμηλών ή και καθόλου θερμίδων τους, του χαμηλού κόστους και της ικανότητας παραγωγής υψηλότερης γλυκύτητας από τη φυσική επιτραπέζια ζάχαρη, τα τεχνητά γλυκαντικά εισάγονται όλο και περισσότερο στα τρόφιμα και τα ποτά ως υποκατάστατα ζάχαρης, όπως επιδόρπια χωρίς ζάχαρη και αναψυκτικά χωρίς ζάχαρη (Tandel, 2011).

Ωστόσο, τα οφέλη για την υγεία των τεχνητών γλυκαντικών έχουν ανακριθεί τα τελευταία χρόνια. Έχει αναφερθεί ότι η κατανάλωση τεχνητών γλυκαντικών μπορεί να μειώσει την ποικιλομορφία του εντερικού μικροβιώματος και επηρεάζουν το μεταβολισμό της γλυκόζης, με αποτέλεσμα τη δυσανεξία στη γλυκόζη (Suez et al., 2014). Τα κοινώς χρησιμοποιούμενα τεχνητά γλυκαντικά που έχουν εγκριθεί από τον ΠΟΥ/FAO για χρήση σε τρόφιμα περιλαμβάνουν τις ακεσουλφάμη-Κ, ασπαρτάμη, σακχαρίνη, σουκραλόζη και νεοτάμη. Αυτά τα τεχνητά γλυκαντικά έχουν τη δική τους αποδεκτή ημερήσια πρόσληψη, μοναδικός μεταβολισμός και επιδράσεις στη μικροχλωρίδα του εντέρου.

4.2.1 Ακεσουλφαμικό κάλιο

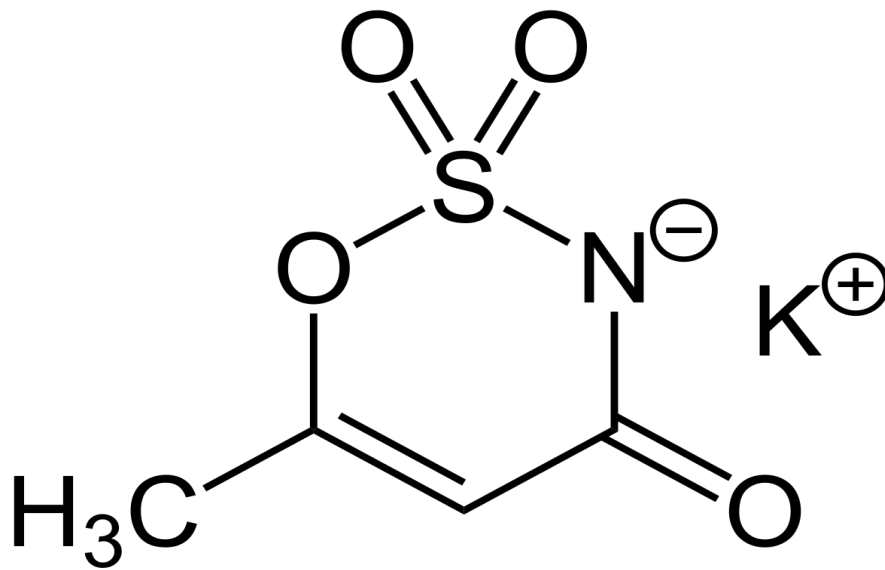
Το ακεσουλφαμικό κάλιο κάλιο, επίσης γνωστό ως ακεσουλφάμη-Κ, επιτρέπεται να χρησιμοποιείται ως γλυκαντικό χαμηλών θερμίδων. Είναι ένα όξινο κυκλικό παράγωγο σουλφοναμιδίου που έχει γεύση σαν σακχαρόζη και είναι 200 φορές πιο γλυκό από τη σακχαρόζη.

Η μέγιστη συνιστώμενη δόση ακεσουλφάμης-Κ είναι 15 mg/kg σωματικού βάρους/ημέρα και το 95% της οποίας μπορεί να αποβληθεί πλήρως από τα ούρα μετά τη διέλευση από το ανθρώπινο πεπτικό σύστημα (Anon, 2004).

Οι Bian et al. (2017) εξέτασαν την επίδραση της ακεσουλφάμης-Κ στη σύνθεση και τον μεταβολισμό της μικροχλωρίδας του εντέρου σε ποντικούς CD-1. Μετά από παρέμβαση τεσσάρων εβδομάδων ακεσουλφάμη-Κ, η διαταραχή των μεταβολικών οδών και της εντερικής χλωρίδας προκλήθηκε σημαντικά με τρόπο που εξαρτάται από το φύλο. Στα αρσενικά ποντίκια, το σωματικό βάρος αυξήθηκε σημαντικά, τα λειτουργικά βακτηριακά γονίδια που σχετίζονται με τον μεταβολισμό των υδατανθράκων ή της ενέργειας ενισχύθηκαν και η σχετική αφθονία των *Bacteroides*, *Sutterella* και *Anaerostipes* αυξήθηκε σημαντικά. Στα θηλυκά ποντίκια, δεν υπήρξε σημαντική αλλαγή στο σωματικό βάρος, αλλά αρκετοί βακτηριακοί μεταβολίτες όπως το 2-ελαϊοτριγλυκερίδιο, το ηλεκτρικό οξύ και το D-γαλακτικό οξύ μειώθηκαν. Ενώ τα *Oxalobacteraceae*, *Clostridium*, *Lactobacillus* και *Ruminococcaceae* μειώθηκαν, το *Mucispirillum* αυξήθηκε. Επιπλέον, η έκφραση των γονιδίων που εμπλέκονται στη σύνθεση λιποπολυσακχαρίτη σε θηλυκά ποντίκια που εκτέθηκαν σε ακεσουλφάμη-Κ αυξήθηκε (Bian et al., 2017).

Αντίθετα, οι Uebanso et al. (2017) έδειξε ότι η ακεσουλφάμη-Κ σε δόση ισοδύναμη με την ανθρώπινη ADI δεν άλλαξε σημαντικά το μικροβίωμα του εντέρου σε ποντίκια. Η σχετική αφθονία των συνολικών βακτηρίων, *Bacteroides*, *Clostridium IV*, *Clostridium IVXa*, *Bacteroidetes* και *Firmicutes* ήταν ίση μεταξύ των ομάδων (Uebanso et al., 2017).

Σε μια συγχρονική κλινική μελέτη, οι Frankenfeld, Sikaroodi, Lamb, Shoemaker και Gillevet (2015) μελέτησαν τις επιδράσεις της ακεσουλφάμης-Κ στην ανθρώπινη εντερική χλωρίδα. Δεν υπήρχε σημαντική διαφορά στη διάμεση βακτηριακή αφθονία μεταξύ των συμμετεχόντων που κατανάλωναν ακεσουλφάμη-Κ και των συμμετεχόντων που δεν κατανάλωναν ακεσουλφάμη-Κ και η αναλογία των *Bacteroidetes* προς τα *Firmicutes* παρέμεινε αμετάβλητη (Frankenfeld et al., 2015).



Εικόνα 2: Ακεσουλφάμη-K

4.2.2 Ασπαρτάμη

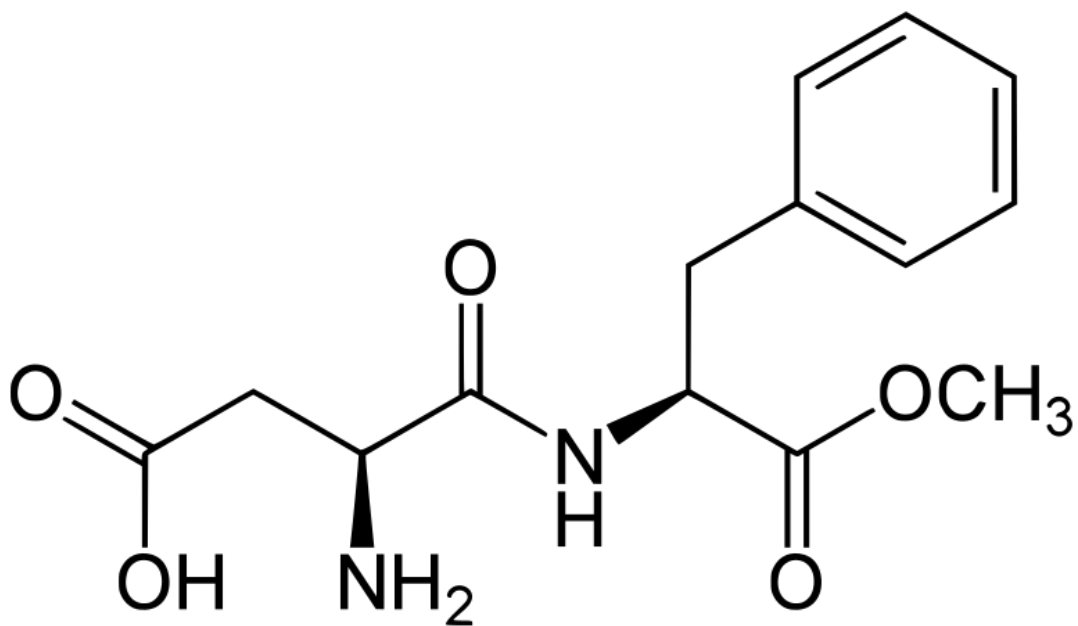
Η ασπαρτάμη είναι ένα διπεπτίδιο που αποτελείται από φαινυλαλανίνη και ασπαρτικό οξύ, στο οποίο το καρβοξυλικό άκρο της φαινυλαλανίνης είναι μεθυλωμένο (Butchko et al., 2002; Ruiz-Ojeda et al., 2019). Είναι 180–200 φορές πιο γλυκό από τη σακχαρόζη και η αποδεκτή ημερήσια πρόσληψη είναι 40 mg/kg σωματικού βάρους/ημέρα. Το μεγαλύτερο μέρος της ασπαρτάμης υδρολύεται πλήρως σε φαινυλαλανίνη, μεθανόλη και ασπαρτικό οξύ στο έντερο και απορροφάται στο λεπτό έντερο (Butchko et al., 2002). Παρόλο που έχει διεξαχθεί μεγάλος αριθμός μελετών σχετικά με την ασφάλεια της ασπαρτάμης στους ανθρώπους, λίγη προσοχή έχει δοθεί στις επιπτώσεις της πρόσληψης ασπαρτάμης στη μικροχλωρίδα του εντέρου.

Palmnas et al. (2014) ανέφεραν τα αποτελέσματα της χαμηλής δόσης ασπαρτάμης (5-7 mg/kg σωματικού βάρους/ημέρα) στον μεταβολισμό και τη μικροχλωρίδα του εντέρου σε αρουραίους χωρίς ή με παχυσαρκία που προκαλείται από τη διατροφή. Ο αριθμός των *Clostridium leptum* και *Enterobacteriaceae* αυξήθηκε λόγω της πρόσληψης ασπαρτάμης και η σχετική αφθονία *Roseburia* αυξήθηκε σε παχύσαρκους αρουραίους που προκλήθηκαν από τη διατροφή. Σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου των παχύσαρκων αρουραίων, η σύνθεση της μικροχλωρίδας του εντέρου στους παχύσαρκους αρουραίους με πρόσληψη ασπαρτάμης έδειξε αυξημένα συνολικά βακτήρια, *Roseburia* spp., *Bifidobacterium* spp., *Clostridium leptum* και *Enterobacteriaceae*. Η πρόσληψη ασπαρτάμης αυξάνει το κυκλοφορικό επίπεδο του προπιονικού λιπαρού οξέος βραχείας αλυσίδας και τη

γλυκονογένεση, γεγονός που μπορεί να οδηγήσει σε υπεργλυκαιμία και ανοχή στην ινσουλίνη (Palmnäs et al., 2014).

Σε άλλη μελέτη, αναλύθηκαν οι επιδράσεις της ασπαρτάμης στον μεταβολισμό της γλυκόζης και στη μικροχλωρίδα του εντέρου (Suez et al., 2014). Η γλυκαιμική απόκριση στην ομάδα της ασπαρτάμης είναι σημαντικά υψηλότερη από αυτή στην ομάδα ελέγχου ($p < 0,001$). Αυτή η ανοχή στη γλυκόζη σχετίζεται με τις αλλαγές στη σύνθεση και τη λειτουργία της μικροχλωρίδας του εντέρου, συμπεριλαμβανομένης της μειωμένης αφθονίας των Clostridiales και της αυξημένης αφθονίας των Bacteroides.

Μια συγχρονική κλινική μελέτη πρότεινε ότι παρόλο που δεν υπάρχει σημαντική διαφορά στην αναλογία Bacteroidetes προς Firmicutes μεταξύ των καταναλωτών ασπαρτάμης και των μη καταναλωτών, η συνολική βακτηριακή ποικιλομορφία διέφερε μεταξύ δύο ομάδων. Για παράδειγμα, η κατανάλωση ασπαρτάμης συσχετίστηκε θετικά με τη φυλή ακτινοβακτηρίων, την κατηγορία των δέλταπρωτεοβακτηρίων και την οικογένεια των εντεροβακτηρίων (Frankenfeld et al., 2015).



Εικόνα 3: Ασπαρτάμη

4.2.3 Σακχαρίνη

Η σακχαρίνη, ένα παράγωγο ναφθαλίνης, είναι περίπου 240-300 φορές πιο γλυκιά από τη ζάχαρη και είναι ένα από τα πρώτα τεχνητά γλυκαντικά που χρησιμοποιούνται σε μια σειρά τροφίμων και ποτών. Μπορεί να απορροφηθεί αργά από το έντερο και το ADI του είναι 5

mg/kg σωματικού βάρους/ημέρα, το οποίο είναι το χαμηλότερο μεταξύ όλων των τεχνητών γλυκαντικών (Carocho et al., 2017).

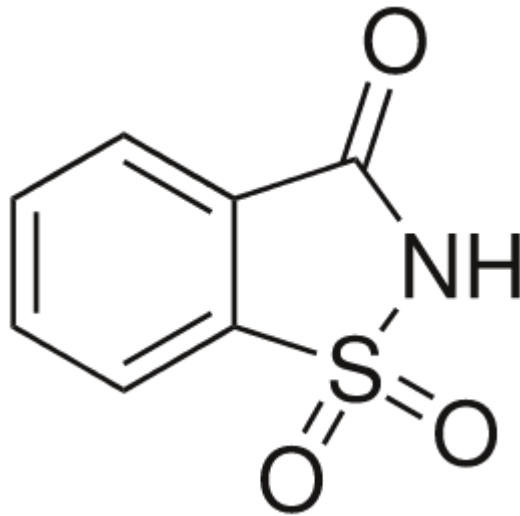
Οι Suez et al. (2014) αξιολόγησαν τις επιδράσεις της εμπορικής και καθαρής σακχαρίνης στη γλυκόζη του αίματος και τη σύνθεση της μικροχλωρίδας του εντέρου σε ποντίκια. Εντερικές μικροβιακές διαταραχές που προκαλούνται από τη σακχαρίνη, συμπεριλαμβανομένου του πολλαπλασιασμού των Clostridiales και των Bacteroides και τη μείωση των Lactobacillus και Firmicutes.

Οι Suez et al. (2014) ανέφεραν επίσης υψηλότερη απόκριση γλυκόζης σε ποντίκια που εκτέθηκαν σε σακχαρίνη. Ούτε τα ποντίκια χωρίς μικρόβια ούτε τα ποντίκια που έλαβαν αντιβιοτικά είχαν μειωμένη ανοχή στη γλυκόζη μετά την κατανάλωση σακχαρίνης, αλλά η μεταμόσχευση μικροβιώματος του εντέρου από in vitro καλλιέργειες που εκτέθηκαν σε σακχαρίνη ή περιττώματα ποντικών που τρέφονταν με σακχαρίνη σε ποντίκια χωρίς μικρόβια διατάραξαν την ομοιόσταση της γλυκόζης (Suez et al., 2014).

Ομοίως, οι Bian et al. (2017) μελέτησαν σχετικά μακροπρόθεσμη επίδραση (έξι μήνες) της πρόσληψης σακχαρίνης σε ποντικούς C57BL/6J. Στους τρεις μήνες, η σχετική αφθονία των *Corynebacterium*, *Akkermansia*, *Oscillospira*, *Jeotgalicoccus* και *Sporosarcina* αυξήθηκε, ενώ ο *Ruminococcus* και ο *Anaerostipes* μειώθηκαν. Ο αριθμός των *Turicibacter*, *Roseburia* και *Corynebacterium* αυξήθηκε, ενώ οι *Dorea*, *Adlercreutzia* και *Ruminococcus* μειώθηκαν στους έξι μήνες. Συνολικά, έντεκα γένη μικροβιώματος του εντέρου άλλαξαν σημαντικά μετά τη λήψη σακχαρίνης και αυτές οι αλλαγές σχετίστηκαν με ηπατίτιδα που προκαλείται από τη σακχαρίνη (Bian et al., 2017).

Εκτός από μελέτες σε ζώα, οι Suez et al. (2014) ερεύνησε τα αποτελέσματα της σακχαρίνης σε επτά υγιείς ενήλικες σε μια μικρής κλίμακας δοκιμή παρέμβασης.

Μετά από μία εβδομάδα κατανάλωσης σακχαρίνης, ορισμένα άτομα (αποκρίθηκαν, 4/7) είχαν δυσανεξία στη γλυκόζη, ενώ άλλοι (μη ανταποκρινόμενοι, 3/7) δεν είχαν καμία αλλαγή στα επίπεδα γλυκόζης στο αίμα τους. Όταν το μικροβίωμα των κοπράνων από τους ανταποκρινόμενους μεταμοσχεύθηκε σε ποντίκια χωρίς μικρόβια, το μέγεθος του πληθυσμού των *Weissella* και *Bacteroides fragilis* αυξήθηκε, ενώ η σχετική αφθονία του *Candidatus Arthromitus* μειώθηκε. Επιπλέον, παρατηρήθηκε σημαντική δυσανεξία στη γλυκόζη μετά τη μεταφορά μικροχλωρίδας κοπράνων από ανταποκριτές σε ποντίκια χωρίς μικρόβια (Suez et al., 2014).



Εικόνα 4: Σακχαρίνη

4.2.4 Σουκραλόζη

Η σουκραλόζη είναι ένας χλωριωμένος δισακχαρίτης και η γλυκαντική του ισχύς είναι περίπου 320-1000 φορές υψηλότερη από τη σακχαρόζη (Roberts, Renwick, Sims, & Snodin, 2000). Η συνιστώμενη ADI του είναι 15 mg/kg σωματικού βάρους/ημέρα (JECFA, 1991). Το μεγαλύτερο μέρος της σουκραλόζης (65–95%) απεκκρίνεται με τα κόπρανα (Anon, 2004).

Οι Uebanso et al. (2017) ανέφερε ότι η σχετική αφθονία κοπράνων *Clostridium IVXa* σε ποντίκια που έλαβαν σουκραλόζη μειώθηκε σημαντικά, μαζί με την αύξηση της αναλογίας δευτερογενούς/πρωτογενούς χολικού οξέος και τη μείωση των επιπέδων βουτυρικού στον αυλό, η οποία σχετιζόταν με την κολίτιδα και την ανοσία του εντέρου. (Uebanso et al., 2017).

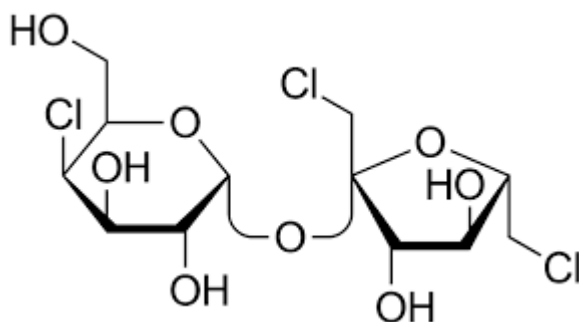
Ομοίως, οι Bian et al. (2017) μελέτησε την επίδραση της σουκραλόζης στο μικροβίωμα του εντέρου σε αρσενικά ποντίκια C57BL/6J. Η σύνθεση της μικροχλωρίδας του εντέρου άλλαξε σημαντικά σε 14 γένη μετά από έκθεση στη σουκραλόζη για έξι μήνες. Στους τρεις μήνες, η σχετική αφθονία του *Ruminococcus* αυξήθηκε, ενώ αυτή των *Bacillales*, *Peptostreptococcaceae*, *Ruminococcus*, *Staphylococcus* και *Anaerostipes* μειώθηκε. Στους έξι μήνες, η σχετική αφθονία των *Christensenellaceae*, *Clostridiaceae*, *Akkermansia*, *Roseburia* και *Turicibacter* αυξήθηκε, ενώ αυτή των *Erysipelotrichaceae*, *Dehalobacterium*, *Streptococcus* και *Ruminococcus* μειώθηκε (Bian et al., 2017).

Abou-Donia, El-Masry, Abdel-Rahman, McLendon και Schiffman (2008) αξιολόγησαν την επίδραση του εμπορικού γλυκαντικού Splenda® (με βάση τη σουκραλόζη) στη

μικροχλωρίδα του εντέρου σε αρσενικούς αρουραίους Sprague-Dawley. Οι αρουραίοι εκτέθηκαν σε διαφορετικές δόσεις Splenda® για δώδεκα εβδομάδες.

Ακόμη και όταν εκτέθηκαν σε χαμηλές δόσεις Splenda®, η σχετική αφθονία των *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* και *Bacteroides* σε ποντίκια μειώθηκε και υψηλή δόση. Η πρόσληψη προκαλεί μείωση των συνολικών αερόβιων βακτηρίων και των κλωστριδίων. Μια άλλη μελέτη εξέτασε επίσης τις επιδράσεις του Splenda® στη μικροχλωρίδα του εντέρου σε ποντίκια με νόσο του Crohn για έξι εβδομάδες (Rodriguez-Palacios et al., 2018).

Αν και η λήψη του Splenda® δεν αύξησε τη σοβαρότητα της ειλεΐτιδας σε ποντίκια, αύξησε σημαντικά το επίπεδο των πρωτεοβακτηρίων συμπεριλαμβανομένων των γαμμαπρωτεοβακτηρίων, των δέλταπρωτεοβακτηρίων, των πρωτεοβακτηρίων Epsilon, *Betaproteobacteria* και *Alphaproteobacteria* και μείωσαν τα επίπεδα *Clostridia* και *Lactobacilli*.



Εικόνα 5: Σουκραλόζη

4.2.5 Κυκλαμικό

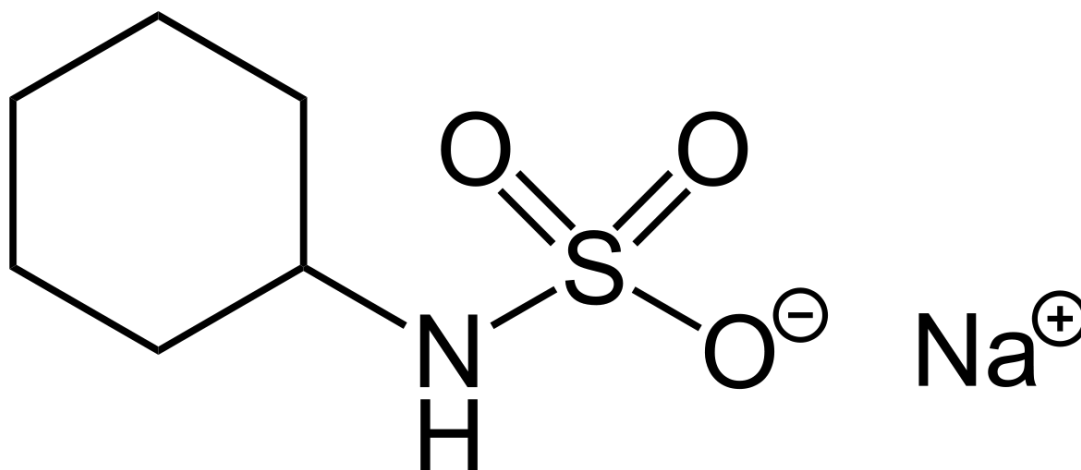
Το κυκλαμικό χρησιμοποιείται συνήθως ως γλυκαντικό σε περισσότερες από 50 χώρες και η γλυκύτητα του είναι 30-40 φορές μεγαλύτερη από τη σακχαρόζη. Ωστόσο, ο FDA κατέργησε το καθεστώς. Γενικά Αναγνωρισμένο ως Ασφαλές (GRAS) του κυκλαμικού το 1969 και το απαγόρευσε εντελώς το 1970 (Carocho et al., 2017). Έχει βρεθεί ότι το κυκλαμικό μπορεί να μεταβολιστεί σε χρόνια τοξική κυκλοεξυλαμίνη υπό τη δράση της μικροχλωρίδας του εντέρου και πειράματα σε ζώα έχουν αποδείξει ότι ανιχνεύθηκαν όγκοι της ουροδόχου κύστης σε αρουραίους που τρέφονταν με μείγμα κυκλαμικού και σακχαρίνης (Oser et al., 1975). Ωστόσο, ο σχεδιασμός και η δοσολογία αυτών των μελετών έχουν αμφισβητηθεί και η ασφάλεια του κυκλαμικού έχει επαναξιολογηθεί. Το 1982, η Μικτή Επιτροπή

Εμπειρογνομόνων FAO/WHO για τα πρόσθετα τροφίμων επανίδρυσε την ADI του κυκλαμικού στα 11 mg/kg σωματικού βάρους/ημέρα (Joint et al., 2013).

Οι Drasar, Renwick και Williams (1972) ανακάλυψαν για πρώτη φορά ότι το κυκλαμικό μετατράπηκε σε κυκλοεξαμίνη από τη μικροχλωρίδα του εντέρου σε αρουραίους. Στη συνέχεια, μελετήθηκαν οι επιδράσεις του κυκλαμικού στη μικροχλωρίδα του εντέρου σε πιθήκους (MATSUI et al., 1976).

Σε σύγκριση με τους πιθήκους ελέγχου, ο συνολικός αριθμός βακτηρίων στα κόπρανα και τα επίπεδα μικροβιακού πληθυσμού, συμπεριλαμβανομένων των *Bifidobacteria*, *Clostridia*, *Enterobacter*, *Veillonella* και *Bacteroidaceae* δεν ήταν σημαντικά διαφορετικά. Το κυκλαμικό έχει επίσης δοκιμαστεί in vitro με το εντερικό μικροβίωμα αρουραίων σε σύστημα αναερόβιας καλλιέργειας (Mallett et al., 1985). Διαπίστωσαν ότι η μικροχλωρίδα των κοπράνων των αρουραίων προήγαγε το μεταβολισμό του κυκλαμικού σε κυκλοεξυλαμίνη και η παραγωγή κυκλοεξυλαμίνης έφτασε στη μέγιστη τιμή την 8η εβδομάδα. Αν και η σχετική αναλογία των κύριων βακτηρίων παρέμεινε αμετάβλητη, ο συνολικός αριθμός μειώθηκε.

Μελέτες έχουν βρει ότι το κυκλαμικό όχι μόνο μειώνει τη ζύμωση γλυκόζης από την εντερική μικροχλωρίδα σε αρουραίους (Pfeffer, Ziesenitz, & Siebert, 1985), αλλά επίσης αυξάνουν τη δραστηριότητα της σουλφατάσης στα εντερικά βακτήρια (Goldin, 1990).



Εικόνα 6: Κυκλαμικό Νάτριο

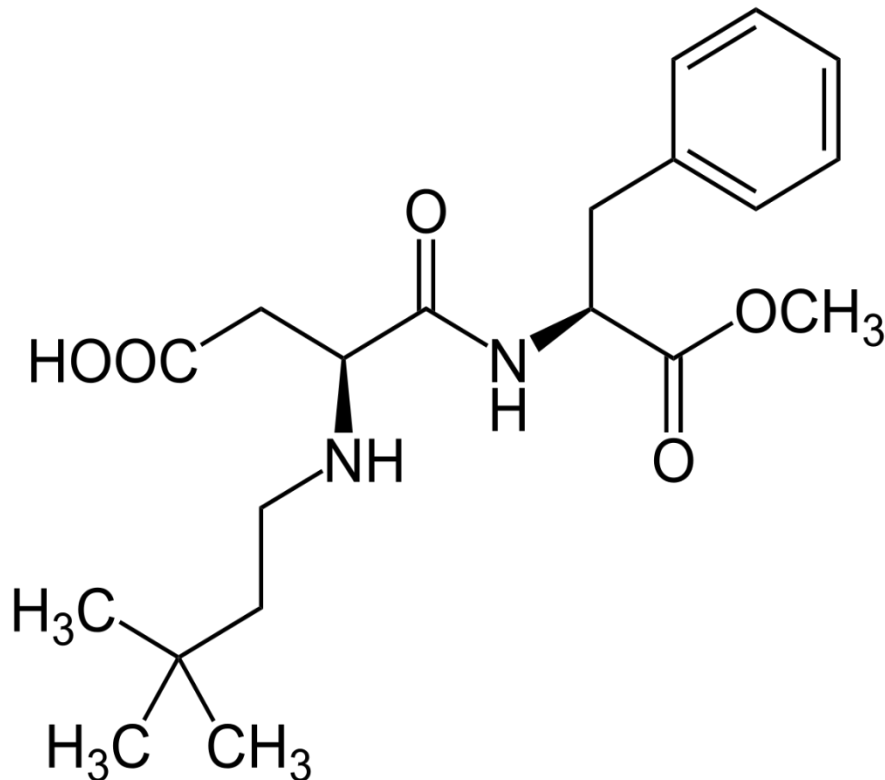
4.2.6 Νεοτάμη

Η νεοτάμη είναι ένα τεχνητό γλυκαντικό που λαμβάνεται με αναγωγική αλκυλίωση της ασπαρτάμης. Συχνά χρησιμοποιείται σε συνδυασμό με άλλα γλυκαντικά σε σάλτσες, ροφήματα γαλακτικού οξέος, τσάι με λεμόνι και αναψυκτικά. Αν και η νεοτάμη και η

ασπαρτάμη είναι ισομερή, η νεοτάμη έχει υψηλότερη γλυκύτητα, η οποία είναι 7000–13000 φορές πιο γλυκιά από τη σακχαρόζη. Τόσο ο FDA όσο και η EFSA έχουν εγκρίνει τη χρήση της νεοτάμης και η ADI που προτείνει η JECFA είναι 2 mg/kg σωματικού βάρους/ημέρα (JECFA, 2004). Η νεοτάμη μπορεί να μεταβολιστεί γρήγορα και δεν συσσωρεύεται στον οργανισμό. Η μισή νεοτάμη που καταναλώνεται δεν απορροφάται και αποβάλλεται με τα κόπρανα, ενώ η άλλη μισή αποβάλλεται μέσω των ούρων με τη μορφή αποεστεροποιημένης νεοτάμης. Δεν έχει αναφερθεί τοξικότητα σε ποντίκια και άλλα πειραματόζωα που τρέφονταν με νεοτάμη (Ανοη, 2004).

Οι Chi et al. (2018) μελέτησε την επίδραση της πρόσληψης νεοτάμης στη μικροχλωρίδα του εντέρου σε αρσενικά ποντίκια CD-1. Μετά από παρέμβαση τεσσάρων εβδομάδων, μια σημαντική αύξηση στα *Bacteroidetes* και μια σημαντική μείωση στα Firmicutes παρατηρήθηκε σε ποντίκια που έλαβαν νεοτάμη. Η σχετική αφθονία δώδεκα γενών σε ποντικούς που τρέφονταν με νεοτάμη ήταν σημαντικά χαμηλότερη από τους ελέγχους, μεταξύ των οποίων οι πιο αξιοσημείωτες αλλαγές παρατηρήθηκαν σε μέλη των *Ruminococcaceae* και *Lachnospiraceae*, όπως *Ruminococcus*, *Oscillospira*, *Dorea* και *Blautia*.

Συλλογικά, τεχνητά γλυκαντικά, συμπεριλαμβανομένης της ακεσουλφάμης καλίου, η ασπαρτάμη, η σακχαρίνη, η σουκραλόζη, το κυκλαμικό και η νεοτάμη θα μπορούσαν να προκαλέσουν δυσβίωση του εντέρου, η οποία θα μπορούσε να οδηγήσει σε διαταραχή του μεταβολισμού της γλυκόζης στα τρωκτικά. Στους ανθρώπους, η κατανάλωση σακχαρίνης διέκοψε την ομοιόσταση της γλυκόζης σε ορισμένους αλλά όχι σε όλους τους συμμετέχοντες. Ωστόσο, απαιτείται να διεξαχθούν κλινικές δοκιμές μεγάλης κλίμακας και τυχαιοποιημένες σε ανθρώπους για να αποσαφηνιστεί πλήρως η επίδραση των τεχνητών γλυκαντικών στη μικροχλωρίδα και στην υγεία του ανθρώπινου εντέρου.



Εικόνα 7: Νεοτάμη

4.3 Γαλακτωματοποιητές

Ο όρος «γαλακτωματοποιητής» περιλαμβάνει γαλακτωματοποιητές που έχουν επιφανειακή δραστηριότητα στη διεπιφάνεια λαδιού-νερού για σταθεροποίηση του γαλακτώματος. Θα μπορούσαν να βοηθήσουν βελτιώνει την υφή και τη γεύση του φαγητού, βελτιώνει τη σταθερότητα του προϊόντος και παρατείνει τη διάρκεια ζωής (Halmos, Mack, & Gibson, 2019). Μερικοί γαλακτωματοποιητές υπάρχουν φυσικά σε τρόφιμα όπως η επιφανειοδραστική πρωτεΐνη καζεΐνη και άλλοι συντίθενται από φυσικά απαντώμενες ενώσεις όπως η καρβοξυμεθυλοκυτταρίνη (CMC) και το πολυσορβικό 80 (P80). Τα τελευταία χρόνια, αυξανόμενες μελέτες έχουν δείξει ότι οι γαλακτωματοποιητές τροφίμων μπορούν να επηρεάσουν τη μικροχλωρίδα του εντέρου, να προκαλέσουν φλεγμονή του εντέρου και να προάγουν το μεταβολικό σύνδρομο (Chassaing et al., 2015).

4.3.1 Καρβοξυμεθυλοκυτταρίνη

Η καρβοξυμεθυλοκυτταρίνη (CarboxyMethyl Cellulose, CMC) είναι ένα παράγωγο κυτταρίνης που λαμβάνεται από ξυλοπολτό επεξεργασμένο με χλωροξικό οξύ και αλκάλιο. Μελέτες τοξικότητας στο CMC έδειξαν ότι δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές παρενέργειες σε

ποντίκια και αρουραίους που έλαβαν CMC με 10.000 ή 100.000 ppm για περίπου 100 εβδομάδες (McElligott & Hurst, 1968). Αυτός ο σύνθετος υδατάνθρακας είναι δύσκολο να υδρολυθεί ή να αφομοιωθεί από ενδογενή ένζυμα στον ανθρώπινο γαστρεντερικό σωλήνα, επομένως η πέψη του εξαρτάται συνήθως από τη μικροχλωρίδα του εντέρου (Shang et al., 2018). Η εντερική μικροχλωρίδα ζυμώνει καρβοξυμεθυλοκυτταρίνη σε λιπαρά οξέα βραχείας αλυσίδας όπως γαλακτικό οξύ, ηλεκτρικό οξύ, μυρμηκικό οξύ, οξικό οξύ, βουτυρικό οξύ και προπιονικό οξύ, τα οποία μπορεί να σχετίζονται με την ανάπτυξη μεταβολικού συνδρόμου, αλλά η συγκεκριμένη σχέση είναι ακόμα ασαφής και χρειάζεται περαιτέρω διερεύνηση σε κλινικές δοκιμές σε ανθρώπους (Wang et al., 2018).

Οι Swidsinski et al. (2009) μελέτησε την επίδραση του CMC σε ποντίκια με γονιδιακή έλλειψη IL-10. Τα ποντίκια με έλλειψη γονιδίου IL-10 που υποβλήθηκαν σε θεραπεία με CMC εμφάνισαν βακτηριακή υπερανάπτυξη και η συγκέντρωση βακτηρίων στον ειλεό των ποντικών που υποβλήθηκαν σε θεραπεία ήταν υψηλότερη από 10⁸ CFU/mL. Τα λευκοκύτταρα μετανάστευσαν στον εντερικό αυλό σε 4 από τα 7 ποντίκια CMC. Το CMC προκάλεσε μείωση του *Eubacterium rectale* στον ειλεό και τη νήστιδα και αύξηση των *Bacteroides*. Σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου, μεγάλο μέρος των ποντικών που έλαβαν CMC είχαν λευκοκύτταρα που μεταναστεύουν στον εντερικό αυλό. Οι συγγραφείς πρότειναν ότι η θεραπεία με CMC θα μπορούσε να οδηγήσει σε υπερβολική ανάπτυξη εντερικών βακτηρίων και να προκαλέσει φλεγμονή του εντέρου σε ευαίσθητα ποντίκια.

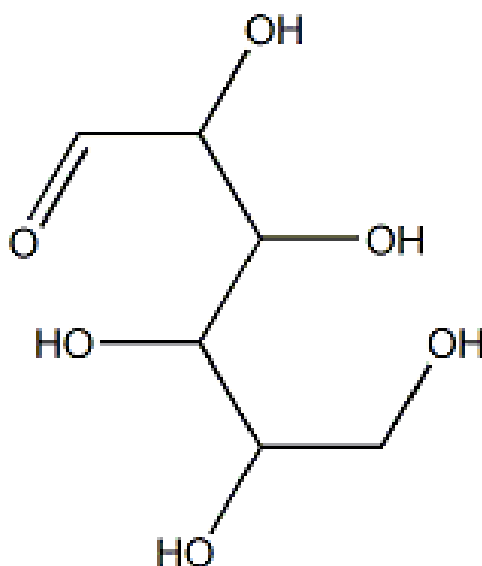
Προκειμένου να επαληθευτεί η επίδραση του γαλακτωματοποιητή CMC στην εντερική φλεγμονή χαμηλού βαθμού και τις αλλαγές στη σύνθεση της μικροχλωρίδας του εντέρου σε ποντίκια, οι Viennois, Merlin, Gewirtz και Chassaing (2017) έλαβαν θεραπεία σε ποντίκια με CMC πριν εγκαταστήσουν καρκίνο του παχέος εντέρου που προκαλείται από κολίτιδα. Μετά από θεραπεία με CMC για 13 εβδομάδες, η σύνθεση του μικροβιώματος του εντέρου των ποντικών άλλαξε. Η σχετική αφθονία κοπράνων των *Proteobacteria* και *Firmicutes* μειώθηκε σημαντικά, ενώ η αφθονία των *Bacteroidetes* αυξήθηκε. Με την αλλαγή της σύστασης της μικροχλωρίδας του εντέρου, αυξήθηκε ο δυναμικός δείκτης της εντερικής φλεγμονής (λιποκαλίνη-2 κοπράνων) σε ποντίκια. Δεν υπήρχε σημαντική διαφορά στον βαθμό φλεγμονής μεταξύ της ομάδας θεραπείας με AOM/DSS και της ομάδας που λάμβανε μόνο CMC, αλλά η συχνότητα εμφάνισης του όγκου αυξήθηκε στην ομάδα θεραπείας με AOM/DSS και στην ομάδα που έλαβε μόνο CMC σε σύγκριση με την

ομάδα ελέγχου με κανονική διαίτα και νερό. Η ιστολογική εξέταση έδειξε ότι οι περιοχές διήθησης του αδενώματος και των φλεγμονωδών κυττάρων σε ποντικούς που υποβλήθηκαν σε θεραπεία με CMC ήταν αυξημένες σε σύγκριση με εκείνες σε ποντικούς ελέγχου. Όταν το εναιώρημα κοπράνων ποντικών που υποβλήθηκαν σε θεραπεία με CMC 1% μεταμοσχεύθηκε σε ποντίκια Swiss Webster χωρίς μικρόβια, μετρήθηκε η έκφραση γονιδίων που σχετίζονται με τον πολλαπλασιασμό (Ki67, κυκλίνη D1, D2), την αγγειογένεση (VEGFA) και την απόπτωση (BCL2, BAD). . BCL2, BAD και GFA δεν άλλαξαν σημαντικά στα συμβατικά ποντίκια και στα μεταμοσχευμένα ποντίκια. Σε σύγκριση με την αντίστοιχη ομάδα ελέγχου, η κυκλίνη D1 των συμβατικών ποντικών που προμηθεύτηκαν και μεταμοσχεύθηκαν με CMC αυξήθηκε σημαντικά, ενώ η κυκλίνη D2 μειώθηκε σημαντικά. Αυτή η μελέτη πρότεινε ότι το CMC αλλάζει την ισορροπία μεταξύ πολλαπλασιασμού και απόπτωσης, δημιουργώντας και διατηρώντας ένα προφλεγμονώδες περιβάλλον στο κόλον, προάγοντας έτσι την καρκινογένεση. Εκτός από πειράματα σε ζώα, μοντέλα in vitro έχουν χρησιμοποιηθεί για τη μελέτη των επιδράσεων του CMC στη μικροβιακή σύνθεση του εντέρου.

Οι Chassaing, Van de Wiele και De Bodt (2017) χρησιμοποίησαν ένα οικοσύστημα ανθρώπινης εντερικής μικροχλωρίδας προσομοιωμένο με βλεννογόνο (M-Shime) για να μελετήσουν περαιτέρω τις επιδράσεις του CMC στη σύνθεση της μικροχλωρίδας του εντέρου και τη σχέση μεταξύ της κατανάλωσης CMC και της εντερικής φλεγμονής και του μεταβολισμού σύνδρομο. Το μοντέλο M-SHIME είναι ένα δυναμικό μοντέλο in vitro που αποτελείται από μια σειρά από γυάλινα αγγεία με ρυθμισμένο pH, με διπλό περίβλημα, τα οποία προσομοιώνουν το στομάχι, το λεπτό έντερο και διάφορα μέρη του παχέος εντέρου. Για την καλύτερη προσομοίωση του καλυμμένου με βλέννα του ανθρώπινου εντερικού σωλήνα, το MSHIME δημιουργεί ένα περιβάλλον βλεννογόνου προσθέτοντας μικροκόσμους καλυμμένους με βλεννογόνο, επιτρέποντας τη μελέτη μικροβίων τόσο του αυλού όσο και του βλεννογόνου (Lambrecht et al., 2019). Όταν η προσομοιωμένη μικροχλωρίδα του παχέος εντέρου στο M-SHIME υποβλήθηκε σε θεραπεία με 1% CMC για 13 ημέρες, ο αριθμός των Bacteroidaceae μειώθηκε ενώ τα Enterobacteriaceae και τα Proteobacteria αυξήθηκαν. CMC Η έκφραση του γονιδίου της μαστιγίνης αυξήθηκε με CMC σε όλες τις ελεγχόμενες συγκεντρώσεις. Όταν 1% μικροβίωμα M-Shime που υποβλήθηκε σε θεραπεία με CMC μεταμοσχεύθηκε σε ποντίκια C57BL/6 Rag-/- χωρίς μικρόβια, οι αλλαγές στο μικροβίωμα του εντέρου στα ποντίκια ήταν παρόμοιες με εκείνες στο σύστημα M-Shime. Η

αύξηση της συγκέντρωσης λιποπολυσακχαρίτη και μαστιγίνης ήταν επίσης συνεπής με αυτή στο σύστημα M-Shime, το οποίο πρότείνει ότι το CMC αύξησε το προφλεγμονώδες δυναμικό της μικροχλωρίδας του εντέρου. Τα ποντίκια που μεταμοσχεύθηκαν με εναιώρημα CMC M-Shime έχουν αυξημένα επίπεδα λιπιδικού φορέα πρωτεΐνης-2 (Icn2), ήπια σπληνομεγαλία, πάχυνση του παχέος εντέρου και παχυσαρκία, τα οποία όλα είναι σημάδια χαμηλής φλεγμονής και μεταβολικού συνδρόμου.

Το πώς η CMC προκαλεί αλλαγές στη σύνθεση της μικροχλωρίδας του εντέρου και προκαλεί εντερική φλεγμονή χρειάζεται ακόμη περαιτέρω διερεύνηση. Ένας πιθανός μηχανισμός είναι ότι η CMC θα μπορούσε να βλάψει άμεσα το στρώμα βλέννας, οδηγώντας σε αλλαγές στον εντερικό βλεννογόνο και φλεγμονή του βλεννογόνου (Swidsinski et al., 2009). Ένας άλλος πιθανός μηχανισμός είναι ότι η CMC προκαλεί αύξηση στην έκφραση της βιοδραστικής μαστιγίνης, η οποία με τη σειρά της ενισχύει την ικανότητα των βακτηρίων να διεισδύουν στη βλέννα, προάγοντας έτσι την υπερανάπτυξη των εντερικών βακτηρίων και μεταβάλλοντας τα λειτουργικά χαρακτηριστικά της μικροχλωρίδας του εντέρου (Halmos et al., 2019).



Εικόνα 8: Καρβοξυμεθυλοκυτταρίνη

4.3.2 Πολυσορβικό 80

Το πολυσορβικό 80 (P80) παρασκευάζεται με συμπολυμερισμό της σορβιτόλης και του αφυδατωμένου μονοελαϊκού της με αιθυλενοξειδίου. Συχνά χρησιμοποιείται στην

επεξεργασία τροφίμων ως εξαιρετικός γαλακτωματοποιητής, διαλυτοποιητής ή σταθεροποιητής τύπου O/W. Παρόμοια με το CMC, το πολυσορβικό 80 είναι δύσκολο να χωνευτεί στο γαστρεντερικό σωλήνα, το μεγαλύτερο μέρος του οποίου απεκκρίνεται μέσω των περιττωμάτων, αλλά μπορεί να αυξήσει τον λιποπολυσακχαρίτη του ορού και τη φλεγμονώδη μαστίγωση *in vivo*, να προάγει τη μικροβιακή εισβολή και να οδηγήσει σε αλλαγές στη σύνθεση της μικροχλωρίδας του εντέρου και εντερική φλεγμονή (Holder & Chassaing, 2018). Η JECFA καθόρισε μια ADI 25 mg/kg σωματικού βάρους/ημέρα για το P80.

Οι Chassaing et al. (2015) μελέτησαν τις επιδράσεις του 1% P80 στη μικροχλωρίδα του εντέρου, την κολίτιδα και το μεταβολικό σύνδρομο σε άγριου τύπου C57BL/6 και δύο γενετικά τροποποιημένα ποντίκια (IL10^{-/-} και TLR5^{-/-}). Η μελέτη 12 εβδομάδων έδειξε ότι η πρόσληψη P80 δεν είχε σημαντική επίδραση στα συνολικά βακτήρια των κοπράνων στα ποντίκια, αλλά η P80 μείωσε το πάχος της εντερικής βλέννας, προώθησε την επαφή μεταξύ βακτηρίων και επιθηλιακών κυττάρων και προκάλεσε αλλαγές στη χλωρίδα της εντερικής προσκόλλησης και στη βακτηριακή σύνθεση των κοπράνων.

Το P80 είχε επίσης ως αποτέλεσμα αυξημένη εντερική διαπερατότητα και τα επίπεδα λιποπολυσακχαρίτη και μαστιγίνης. Επιπλέον, οι Chassaing et al. (2015) μελέτησε τις δοσοεξαρτώμενες επιδράσεις του P80. Τα ποντίκια που έλαβαν θεραπεία με 0,1% P80 είχαν χαμηλή φλεγμονή και παχυσαρκία, ενώ τα ποντίκια που έλαβαν θεραπεία με 0,5% P80 εμφάνισαν ήπια υπογλυκαιμία.

Οι Singh, Wheildon και Ishikawa (2016) μελέτησαν επίσης τις επιδράσεις του P80 στην εντερική μικροχλωρίδα σε ποντίκια και την εντερική φλεγμονή και τη δυσλειτουργία του ήπατος. Σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου, τα εγγενή γραμμοθετικά βακτήρια στα ποντίκια που έλαβαν P80 αυξήθηκαν σημαντικά και προώθησαν το μη αλκοολικό λιπώδες ήπαρ μέσω της εντεροηπατικής κυκλοφορίας των εντερικών βακτηριακών μεταβολιτών. Εκτός από τη μείωση των *Bacteroides*, αυξήθηκε ο αριθμός των *Salmonella spp.*, *Helicobacter*, *Clostridium*, *Campylobacter jejuni* και *Porphyromonadaceae*, μεταξύ των οποίων *Campylobacter jejuni*, *Salmonella spp.* και το *Helicobacter* συνήθως σχετίζονται με τη φλεγμονή και τα *Porphyromonadaceae* σχετίζονται με φλεγμονή και επιδείνωση της ηπατικής στεάτωσης.

Τα ποντίκια που τροφοδοτήθηκαν με P80 εμφάνισαν βραχύτερο κόλον, κατεστραμμένα επιθηλιακά κύτταρα, μειωμένα επίπεδα κοπράνων λιπαρών οξέων

βραχείας αλυσίδας όπως βουτυρικό, προπιονικό και οξικό, και σημαντικά μειωμένη έκφραση της βλεννίνης-2. Τα ποντίκια στην ομάδα P80 παρουσίασαν επίσης αυξημένα επίπεδα LCN2 στο κόλον και στα κόπρανα, αυξημένη εντερική διαπερατότητα και αυξημένα επίπεδα μαστιγίνης και βιοδραστικών λιποπολυσακχαριτών, που σχετίζονται με χρόνια φλεγμονή του εντέρου.

Η θεραπεία με P80 αύξησε τα επίπεδα της ηπατικής αλκαλικής φωσφατάσης (ALP), της αμινοτρανσφεράσης της αλανίνης (ALT) και της ασπαρτικής αμινοτρανσφεράσης (AST) κατά 40%, 50% και 50% αντίστοιχα. Επιπλέον, παρατηρήθηκαν επίσης σταγονίδια λιπιδίων και στεάτωση που σχετίζονται με αυξημένη δραστηριότητα των ηπατικών ενζύμων, υποδηλώνοντας ηπατική βλάβη.

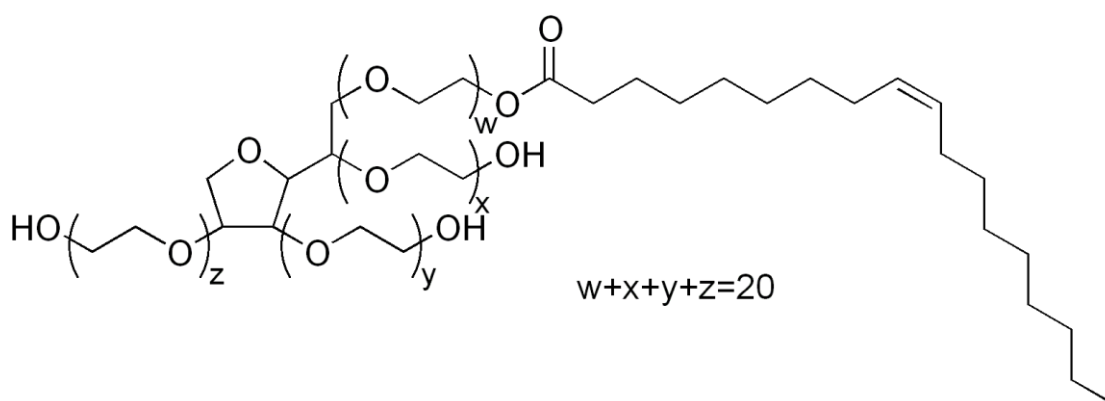
Στην ίδια προαναφερθείσα έρευνα για το CMC, οι Viennois et al. (2017) μελέτησε επίσης τις επιδράσεις του P80 στη μικροχλωρίδα του εντέρου και στη χαμηλής ποιότητας εντερική φλεγμονή σε ποντίκια. Η σχετική αφθονία των Proteobacteria και των Firmicutes στα ποντίκια P80 μειώθηκε σημαντικά, ενώ αυτή των Bacteroidetes αυξήθηκε. Παρόμοια με το CMC, το P80 έχει παρόμοια επίδραση στην προαγωγή του μεταβολικού συνδρόμου και του καρκίνου του παχέος εντέρου.

Οι Chassaing et al. (2017) μελέτησε τις επιδράσεις του P80 στη σύνθεση της μικροχλωρίδας του εντέρου ποντικών χρησιμοποιώντας το μοντέλο M-SHIME και τη μεταμόσχευση μικροχλωρίδας. Παρόμοια με ό,τι παρατήρησαν για το CMC, η αποικιομορφία και η γονιδιακή έκφραση του LPS και της μαστιγίνης αυξήθηκαν μετά τη θεραπεία με P80 και η μεταμόσχευση μικροχλωρίδας που υποβλήθηκε σε θεραπεία με P80 προκαλεί παρόμοιες αλλαγές σε ποντίκια χωρίς μικρόβια.

Αν και τόσο το P80 όσο και το CMC αύξησαν την έκφραση της προφλεγμονώδους μαστιγίνης, η επαγόμενη από το P80 αύξηση είναι πιο αργή από τις επαγόμενες από το CMC αλλαγές.

Σε σύγκριση με το CMC που αλλάζει τη λειτουργία του εντερικού βλεννογόνου και προάγει την εντερική φλεγμονή και την υπερβολική βακτηριακή ανάπτυξη σε ποντίκια, το P80 αυξάνει τη βακτηριακή μετατόπιση μεταξύ των επιθηλιακών κυττάρων (Roberts et al., 2010).

Συνοψίζοντας, οι γαλακτωματοποιητές CMC και P80 θα μπορούσαν να αλλάξουν άμεσα τη μικροχλωρίδα, να αυξήσουν την ικανότητά τους να διεισδύουν στο στρώμα της βλέννας, να επηρεάσουν τις οδούς σηματοδότησης του πολλαπλασιασμού και της απόπτωσης των κυττάρων και να οδηγήσουν σε φλεγμονή του εντέρου και διαταραγμένη μεταβολική ομοιόσταση. Το πώς αυτά τα ευρήματα στα τρωκτικά μεταφράζονται σε ανθρώπους αξίζει περαιτέρω διερεύνηση.



Εικόνα 9: Πολυσορβικό 80

4.4 Συντηρητικά

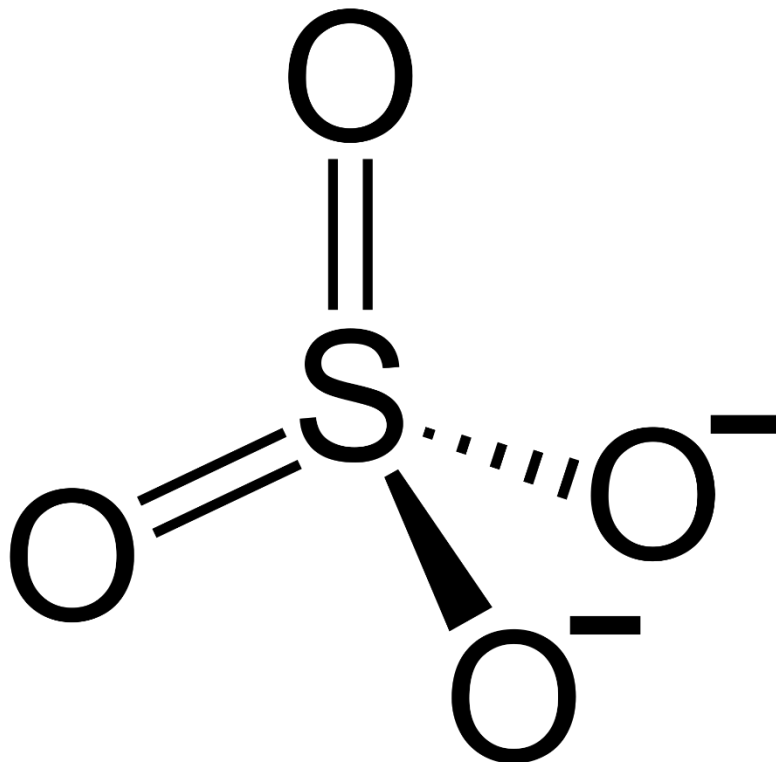
Το συντηρητικό τροφίμων είναι συνθετικές ή φυσικές ουσίες που μπορούν να αποτρέψουν τις ανεπιθύμητες αλλαγές των τροφίμων που προκαλούνται από την οξείδωση, τη δραστηριότητα των ενζύμων και την ανάπτυξη μικροοργανισμών (Gokoglu, 2019). Τα συνθετικά συντηρητικά τροφίμων όπως τα θειώδη, τα βενζοϊκά, τα σορβικά και τα νιτρώδη χρησιμοποιούνται ευρέως και γενικά θεωρούνται ασφαλή για κατανάλωση, αλλά εξακολουθούν να υπάρχουν ορισμένες αβεβαιότητες και ανησυχίες σχετικά με τις επιπτώσεις στην υγεία από αλόγιστη και μακροχρόνια χρήση συνθετικών συντηρητικών τροφίμων.

Όσον αφορά τα φυσικά συντηρητικά, η χρήση της νισίνης έχει εγκριθεί παγκοσμίως λόγω της χαμηλής τοξικότητάς της και δραστηριότητας έναντι πολλών θετικών κατά Gram βακτηρίων, αλλά η επίδρασή της στη μικροχλωρίδα του εντέρου δεν έχει αντιμετωπιστεί πλήρως. Τα πειραματικά δεδομένα σχετικά με την ευαισθησία της ανθρώπινης μικροχλωρίδας του εντέρου στα συντηρητικά τροφίμων είναι σπάνια, μόνο περιορισμένες μελέτες έχουν αντιμετωπίσει τις επιδράσεις των αντιμικροβιακών συντηρητικών τροφίμων στους εντερικούς μικροοργανισμούς.

4.4.1 Θειικά

Το θειώδες άλας χρησιμοποιείται συνήθως στα τρόφιμα για την αναστολή της μικροβιακής ανάπτυξης και τη διατήρηση του χρώματος. Το 1974, η JECFA καθιέρωσε για τα θειώδη μια ADI 0,7 mg/kg σωματικού βάρους. Οι Irwin, Fisher, Graham, Malek και Robidoux (2017) μελέτησαν τις επιδράσεις του θειώδους σε διαφορετικές συγκεντρώσεις σε τέσσερα ωφέλιμα εντερικά βακτήρια, *Streptococcus salivarius subsp*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus* και *Lactobacillus plantarum*.

Αν και το περιβάλλον ανάπτυξης για τα τέσσερα είδη ωφέλιμων βακτηρίων είναι βέλτιστο και ο χρόνος έκθεσης είναι σχετικά σύντομος, το θειώδες σε συγκεντρώσεις κάτω από την ADI εξακολουθεί να παρουσιάζει βακτηριοστατικές ή βακτηριοκτόνες επιδράσεις στα τέσσερα ωφέλιμα βακτήρια. Ωστόσο, το πραγματικό εντερικό περιβάλλον είναι πιο περίπλοκο, επομένως απαιτούνται περαιτέρω πειράματα σε ζώα ή κλινικές μελέτες σε ανθρώπους για να επιβεβαιωθούν οι ειδικές επιδράσεις του θειώδους στο εντερικό μικροβίωμα.

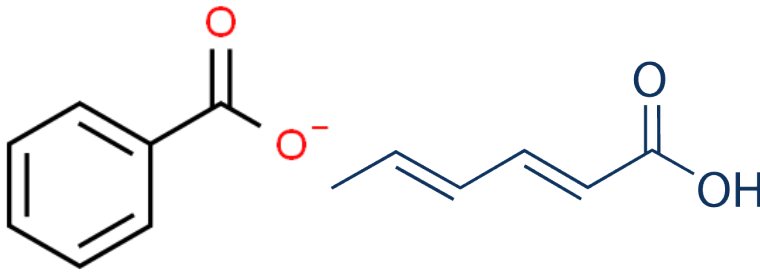


Εικόνα 10: Θειικό ιόν

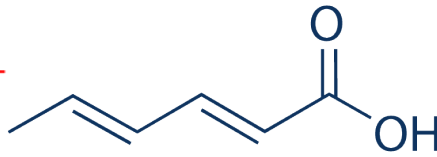
4.4.2 Βενζοϊκό νάτριο, σορβικό κάλιο και νιτρώδες νάτριο

Η JECFA προσδιόρισε ότι οι ADI του βενζοϊκού νατρίου, του νιτρώδους νατρίου και του σορβικού καλίου είναι 5, 0,07 και 25 mg/kg σωματικού βάρους, αντίστοιχα. Hrnčirova et al. (2019a) εξέτασε in vitro την επίδραση μεμονωμένων ή συνδυασμένων αντιβακτηριακών προσθέτων τροφίμων βενζοϊκό νάτριο, σορβικό κάλιο και νιτρώδες νάτριο σε εντερικά βακτήρια που απομονώθηκαν από ανθρώπινα κόπρανα. Η εντερική χλωρίδα ήταν ιδιαίτερα ευαίσθητη στα αντιμικροβιακά πρόσθετα τροφίμων. Το πιο ευαίσθητο στέλεχος ήταν το *Bacteroides coprocola* που σχετίζεται με τη νόσο του Crohn και την ελκώδη κολίτιδα, το οποίο είναι εξαιρετικά ευαίσθητο στο νιτρώδες νάτριο και τον συνδυασμό του σε σύγκριση με άλλα στελέχη.

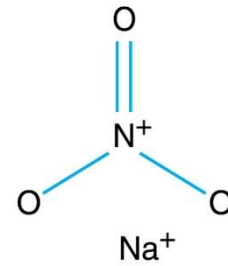
Το *Clostridium tyrobutyricum* ήταν επίσης ευαίσθητο στο νιτρώδες νάτριο και στο συνδυασμό του. Ο *Lactobacillus paracasei* και το *Bifidobacterium longum*, τα οποία μπορούν να ενισχύσουν την αντικαρκινική ανοσία in vivo, ήταν πιο ευαίσθητα στο βενζοϊκό νάτριο από άλλα στελέχη. *Enterococcus aecalis* ήταν το πιο ευαίσθητο στο βενζοϊκό νάτριο, ενώ το *Escherichia coli* ήταν το πιο ευαίσθητο στο σορβικό κάλιο. Οι Hrnčirova, Machona, Trckona, Krejsek και Hrnčir (2019b) χρησιμοποίησαν ποντίκια που αποικίστηκαν με ανθρώπινο μικροβίωμα για να μελετήσουν τις επιδράσεις των συντηρητικών τροφίμων στη μικροχλωρίδα του εντέρου. Βενζοϊκό νάτριο (4,8 mg/kg σωματικό βάρος/ημέρα), νιτρώδες νάτριο (0,36 mg/kg σωματικό βάρος/ημέρα) και σορβικό κάλιο (19 mg/kg σωματικό βάρος/ημέρα) χορηγήθηκαν στη δεύτερη γενιά ποντικών χωρίς μικρόβια (άγρια τύπου και Nod2-deficient C57BL/6). Αυτά τα συχνά χρησιμοποιούμενα συντηρητικά τροφίμων οδήγησαν στη μείωση της μικροβιακής ποικιλότητας του εντέρου, στη μείωση των *Clostridiales* και στην αύξηση των Πρωτεοβακτηρίων. Τα ποντίκια με έλλειψη Nod2 ήταν ιδιαίτερα ευάλωτα στη διαταραχή της μικροχλωρίδας του εντέρου. Οι συγγραφείς υπέθεσαν ότι η έκθεση της ανθρώπινης μικροχλωρίδας του εντέρου σε συντηρητικά πρόσθετα, ακόμη και σε χαμηλές δόσεις, μπορεί να προκαλέσει τη δυσβίωση της μικροχλωρίδας του εντέρου.



Εικόνα 11: Βενζοϊκό ιόν



Εικόνα 12: Σορβικό οξύ



Εικόνα 13: Νιτρικό Νάτριο

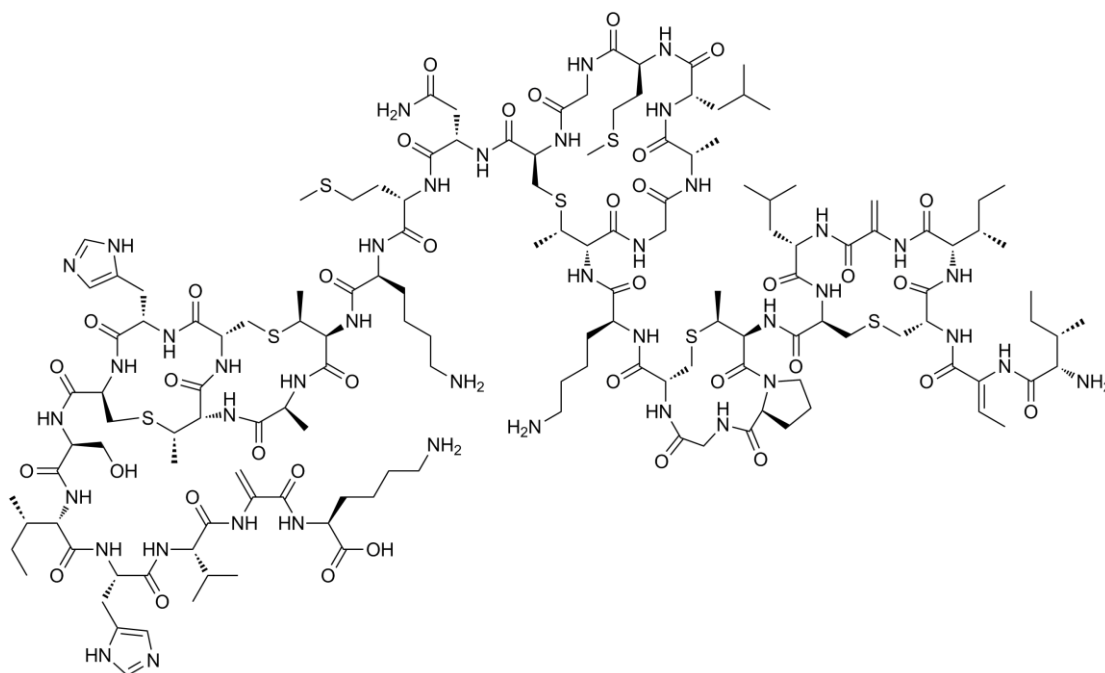
4.4.3 Νισίνη

Λόγω της εξαιρετικής αντιβακτηριακής δράσης ειδικά για τα θετικά κατά Gram βακτήρια, η νισίνη είναι η μόνη βακτηριοσίνη που έχει εγκριθεί από την JECFA ως συντηρητικό τροφίμων και η ADI της είναι 2 mg/kg σωματικού βάρους/ημέρα. Οι Laukoná et al. (2014) χρησιμοποίησαν κουνέλια για να μελετήσουν την αλλαγή της μικροχλωρίδας του εντέρου μετά από συνεχή λήψη νισίνης για 28 ημέρες. Παρατήρησαν σημαντική μείωση στην αφθονία των *Pseudomonads*, *Clostridiae*, κολοβακτηριδίων και θετικών στην κοαγουλάση σταφυλόκοκκων.

Οι Ronan et al. (2018) διερεύνησε την επίδραση της νισίνης σε δύο διαφορετικούς φορείς (ζύμη αμύλου και γέλη αμύλου) στη μικροχλωρίδα του εντέρου σε ποντίκια. Διαπίστωσαν ότι η σχετική αφθονία του *Bifidobacterium* και των θετικών κατά Gram βακτηρίων όπως το *Clostridium cluster XIVa* ήταν σημαντικά χαμηλότερη σε δύο ομάδες κατανάλωσης νισίνης από ό,τι στην αντίστοιχη ομάδα ελέγχου χωρίς νισίνη.

Οι Le Lay, Fernandez, Hammami, Ouellette και Fliss (2015) εφάρμοσαν in vitro μοντέλο ανθρώπινου παχέος εντέρου για να μελετήσουν την επίδραση της νισίνης στη μικροχλωρίδα και διαπίστωσαν ότι η νισίνη στα 19 μmol/L δεν ήταν αρκετή για να αναστείλει το *Clostridium difficile*, αλλά η νισίνη στα 76 μmol/L θα μπορούσε να σκοτώσει το παθογόνο και να προκαλέσει προσωρινές αλλαγές στη μικροχλωρίδα, ειδικά στα θετικά κατά Gram βακτήρια.

Συνολικά, τα χημικά συντηρητικά τροφίμων θα μπορούσαν να οδηγήσουν σε μειωμένη μικροβιακή ποικιλότητα του εντέρου, μείωση των *Clostridiales* και αύξηση των πρωτεοβακτηρίων. Σε σύγκριση με τα συνθετικά συντηρητικά τροφίμων, το φυσικό συντηρητικό νισίνη προκαλεί κυρίως τη μείωση των γραμμοθετικών βακτηρίων και θα μπορούσε να αναστείλει ορισμένα παθογόνα βακτήρια στον εντερικό σωλήνα.



Εικόνα 14: Νισίνη

4.5 Άλλα πρόσθετα τροφίμων

4.5.1 Αρωματικοί παράγοντες: Αιθέρια έλαια

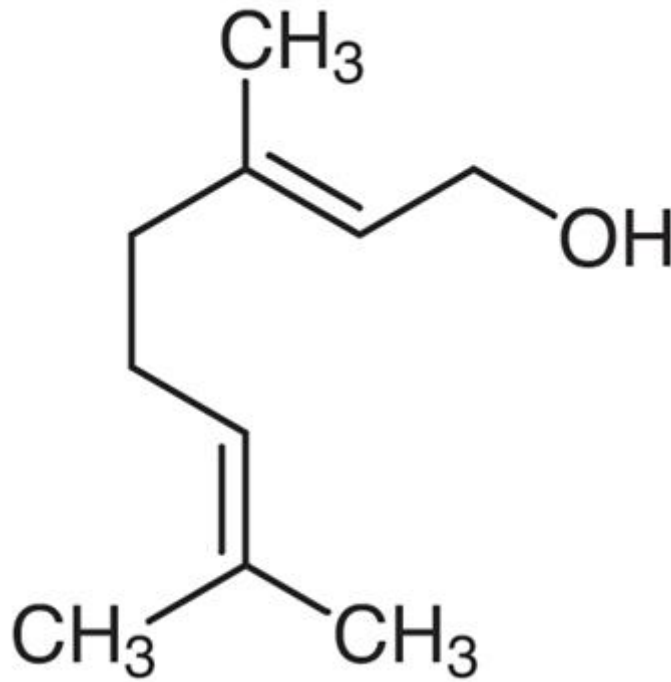
Τα αιθέρια έλαια είναι πολύπλοκα φυσικά μείγματα τερπενίων, τερπενοειδών και άλλων αρωματικών και αλειφατικών συστατικών που εκχυλίζονται με εκχύλιση με οργανικό διαλύτη ή απόσταξη με ατμό από ιστούς ή εκκρίσεις διαφορετικών μερών μπαχαρικών και βοτάνων (Bakkali, Averbeck, Averbeck, & Idoamar, 2008;). Τα αιθέρια έλαια χρησιμοποιούνται ευρέως ως αρωματικοί παράγοντες, αλλά παρουσιάζουν επίσης αντιβακτηριδιακές δράσεις ευρέος φάσματος. Ο Thara (2015) εξέτασε 21 αιθέρια έλαια και διαπίστωσε ότι 19 από αυτά έχουν αντιμικροβιακή δράση έναντι τουλάχιστον ενός από τα βακτήρια μεταξύ των *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, *Klebsiella pneumoniae*, *Bacillus subtilis* και *Staphylococcus aureus*. Τα τελευταία χρόνια, πολλές μελέτες έχουν επιβεβαιώσει ότι το αιθέριο έλαιο μπορεί να προστεθεί στις ζωτροφές για γαρίδες (He et al., 2017), κοτόπουλο κρεατοπαραγωγής (Skoufos et al., 2016), πάπια (Abouelezz et al., 2019) και άλλα ζώα ως υποκατάστατα των αντιβιοτικών αυξητικών προαγωγών λόγω

της θετικής τους επίδρασης στο εντερικό μικροβίωμα και στην αναπτυξιακή απόδοση των ζώων. Μερικά αιθέρια έλαια προστίθενται στα τρόφιμα ως συντηρητικά ή αντιοξειδωτικά, όπως το έλαιο θυμαριού (θυμόλη), το έλαιο κανέλας (κινναμαλδεΐδη) και το έλαιο γαρύφαλλου (ευγενόλη), και οι μελέτες έχουν επικεντρωθεί στις επιδράσεις αυτών των αιθέριων ελαίων στη μικροχλωρίδα του εντέρου και στις εντερικές ασθένειες. Bento et al. (2013) επεσήμανε ότι το μείγμα κινναμαλδεΐδης και θυμαριού είχε θετική επίδραση στο εντερικό μικροβίωμα των μονογαστρικών ζώων, στοχεύοντας αποτελεσματικά επιβλαβή βακτήρια όπως η *Escherichia coli* και η *Salmonella* χωρίς να επηρεάζει τα ωφέλιμα βακτήρια στο έντερο.

Ο Thara (2015) διαπίστωσε ότι η γερανιόλη και η θυμόλη ανέστειλαν την ανάπτυξη των εντερικών συμβιώσεων σε σύστημα μικτής καλλιέργειας κοπράνων. Σε συνθήκες καθαρής καλλιέργειας, η θυμόλη, η νερολιδόλη, η ευγενόλη και η γερανιόλη ανέστειλαν την ανάπτυξη κοινών παθογόνων του εντέρου.

Οι Michiels, Missotten, Fremaut, De Smet και Dierick (2009) μελέτησαν τις αντιβακτηριακές επιδράσεις των αιθέριων ελαίων συμπεριλαμβανομένης της θυμόλης, της ευγενόλης, της καρβακρόλης και της τρανς-κινναμαλδεΐδης στην εντερική χλωρίδα του χοίρου χρησιμοποιώντας ένα in vitro μοντέλο που προσομοιώνει διαφορετικά μέρη του πεπτικού συστήματος. Η ευγενόλη και η τρανς-κινναμαλδεΐδη προώθησαν την ανάπτυξη βακτηρίων που παράγουν γαλακτικό οξύ και μείωσαν τον αριθμό των *E. coli*. Στο τμήμα της προσομοίωσης της νήστιδας, αυτά τα τέσσερα αιθέρια έλαια είχαν ανασταλτικές επιδράσεις στην παραγωγή λιπαρών οξέων βραχείας αλυσίδας.

Ορισμένες μελέτες έχουν δείξει ότι τα αιθέρια έλαια παρουσιάζουν ανασταλτική δράση έναντι ορισμένων παθογόνων βακτηρίων, αλλά μερικά από αυτά θα μπορούσαν να προάγουν την ανάπτυξη εντερικών συμβιωτικών βακτηρίων όπως το *Bifidobacterium spp.* και *Faecalibacterium prausnitzii* σε κάποιο βαθμό και έχουν τη δυνατότητα ως επικουρικά φάρμακα για χημειοθεραπεία σε καρκίνους του παχέος εντέρου (Dinesh, Louis, Losa, Zweifel, & John, 2015).

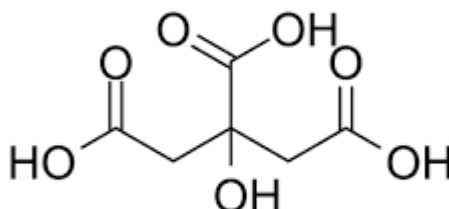


Εικόνα 15: Γερανιόλη

4.6 Ρυθμιστές οξύτητας

Οργανικά οξέα όπως το μηλικό οξύ, το κιτρικό οξύ και το οξικό οξύ, χρησιμοποιούνται συχνά ως ρυθμιστές οξύτητας και ενισχυτικά γεύσης στη βιομηχανία τροφίμων. Χαμηλές δόσεις οργανικών οξέων θα μπορούσαν να ρυθμίσουν το pH και να αναστείλουν την ανάπτυξη παθογόνων βακτηρίων και να προάγουν την ανάπτυξη οξεόφιλων μικροβιακών συμβιώσεων του εντέρου, ενώ οι υψηλές δόσεις οργανικών οξέων έχουν βακτηριοκτόνες και βακτηριοστατικές ιδιότητες (Ricke, 2003). Μελέτες έχουν δείξει ότι η προσθήκη μηλικού οξέος στη διατροφή θα μπορούσε να μειώσει το εντερικό pH και τον αριθμό των βακτηρίων στα κόπρανα στην τιλάπια του Νείλου (Hassaan, Soltan, Jarmolowicz, & Abdo, 2018). Οι Aydin, Pekel, Issa, Demirel και Patterson (2010) επεσήμαναν ότι η συμπλήρωση κιτρικού οξέος στις ζωοτροφές είχε κάποιο αντίκτυπο στην εντερική χλωρίδα των κοτόπουλων κρεατοπαραγωγής, αυξάνοντας σημαντικά τον αριθμό των βακτηρίων γαλακτικού οξέος, του σταφυλόκοκκου και του *Campylobacter* και μειώνοντας τον αριθμό των κολοβακτηριδίων. Συνολικά, τα αιθέρια έλαια θα μπορούσαν να αναστείλουν την ανάπτυξη κοινών εντερικών παθογόνων, ενώ προάγουν την ανάπτυξη ωφέλιμων μικροβίων στη μικροχλωρίδα του εντέρου. Η χρωστική διοξειδίου του τιτανίου φαίνεται να έχει μικρή επίδραση στην ποικιλία της μικροχλωρίδας του εντέρου, αλλά θα μπορούσε να διαταράξει την ομοιοστάση του εντερικού περιβάλλοντος. Οι ρυθμιστές οξύτητας μπορεί να είναι

εντερική μικροχλωρίδα, αλλά απαιτούνται περισσότερα πειράματα σε ζώα ή δοκιμές σε ανθρώπους.



Εικόνα 16: Κιτρικό οξύ

4.7 Μελλοντικές βλέψεις

Η τρέχουσα επιστημονική βιβλιογραφία έχει προτείνει ότι υπάρχει ένας ορισμένος βαθμός αλληλεπίδρασης μεταξύ των προσθέτων τροφίμων και της μικροχλωρίδας του εντέρου, αλλά πρέπει να καταβληθούν ακόμη σημαντικές προσπάθειες για την ολοκληρωμένη αξιολόγηση της επίδρασης των προσθέτων τροφίμων στη μικροχλωρίδα του εντέρου και στην ανθρώπινη υγεία. Οι περισσότερες από τις υπάρχουσες μελέτες υιοθετούν ποντίκια ή αρουραίους για να μελετήσουν πώς τα πρόσθετα τροφίμων επηρεάζουν τη μικροχλωρίδα του εντέρου. Όμως τα τρωκτικά διαφέρουν από τους ανθρώπους ως προς τη δομή και τη λειτουργία του εντέρου, τη σύνθεση της μικροχλωρίδας του εντέρου και τις τοποθεσίες όπου μεταβολίζονται ορισμένα θρεπτικά συστατικά των τροφίμων.

Επομένως, η συνάφεια των ευρημάτων που προέρχονται από ζώα με τα υπολείμματα ανθρώπου πρέπει να καθοριστεί. Ακόμη και στις λίγες δοκιμές σε ανθρώπους, μεγάλες ατομικές διαφορές και μακροπρόθεσμες συνήθεις διατροφικές επιδράσεις μπορεί να θέσουν σε κίνδυνο το συμπέρασμα. Για παράδειγμα, οι Frankenfeld et al. (2015) διαπίστωσε ότι υπήρχε σημαντική διαφορά στη συνολική βακτηριακή ποικιλομορφία των καταναλωτών ακεσουλφάμης καλίου, των καταναλωτών ασπαρτάμης και των μη καταναλωτών, η οποία μπορεί να σχετίζεται με την ατομική συνήθη διατροφή. Ως εκ τούτου, οι αλλαγές στη μικροχλωρίδα του εντέρου που αναφέρονται σε αυτές τις μελέτες δεν μπορούν να θεωρηθούν απλώς ως η μόνη επίδραση που προκαλείται από πρόσθετα τροφίμων.

Αξίζει να σημειωθεί ότι το *in vitro* μοντέλο M-Shime έχει χρησιμοποιηθεί για τη διερεύνηση της επίδρασης του γαλακτωματοποιητή τροφίμων στα ανθρώπινα μικρόβια του εντέρου. Αυτό είναι ένα χρήσιμο μοντέλο για τη μελέτη της άμεσης επίδρασης του πρόσθετου τροφίμων στη μικροχλωρίδα του εντέρου. Ωστόσο, η συσκευή μοντέλου M-Shime είναι πολύπλοκη και το επαναλαμβανόμενο πείραμα δεν μπορεί να εκτελεστεί ταυτόχρονα, επομένως η αναπαραγωγικότητα πρέπει να βελτιωθεί. Για να ξεπεραστούν αυτά τα ζητήματα, μοντέλα *in vitro* όπως το M-Shime, σε συνδυασμό με κλινικές δοκιμές με μια μεγάλη ομάδα συμμετεχόντων με επαρκή ατομική και περιφερειακή μεταβλητότητα, θα βοηθούσαν να διευκρινιστούν ρητά οι επιπτώσεις των προσθέτων τροφίμων στη δομή της μικροχλωρίδας και τις επιπτώσεις στην υγεία των αλληλεπιδράσεων τους.

Ακόμα ένας άλλος παράγοντας που πρέπει να ληφθεί υπόψη σε μελλοντική έρευνα είναι η δοσολογία και η πραγματική πρόσληψη προσθέτων τροφίμων. Ορισμένα πειράματα έχουν σχεδιαστεί για να μελετήσουν την επίδραση των προσθέτων τροφίμων στη μικροχλωρίδα του εντέρου σε σύντομο χρονικό διάστημα. Έτσι, οι δόσεις των προσθέτων τροφίμων που επιλέχθηκαν σε αυτά τα πειράματα σε ζώα είναι πολλές φορές ή και δεκάδες φορές από αυτές της ανθρώπινης ADI και δεν θα μπορούσαν να αντικατοπτρίζουν το πραγματικό σενάριο της ζωής. Για παράδειγμα, οι δόσεις σακχαρίνης που χρησιμοποιήθηκαν στις μελέτες των Anderson and Kirkland (1980) και Suez et al. (2014) ήταν περίπου 2000 φορές και 650 φορές υψηλότερες από την ανθρώπινη ADI, αντίστοιχα.

Σε ορισμένες μελέτες, η δοσολογία των προσθέτων τροφίμων δεν έχει αναφερθεί με ακρίβεια (Bian et al., 2017). Ως αποτέλεσμα, τα ευρήματα από αυτές τις μελέτες δεν μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν άμεσα για να γίνουν διατροφικές συστάσεις για τον άνθρωπο. Επιπλέον, πρέπει επίσης να σημειωθεί η επίδραση της πρόσληψης τροφής και νερού. Ορισμένες μελέτες δεν έλεγξαν ούτε παρακολούθησαν την κατανάλωση τροφής και νερού (Bian et al., 2017).

Οι Suez et al. (2014) ανέφερε ότι υπάρχουν διαφορές στην κατανάλωση φαγητού μεταξύ της ομάδας θεραπείας και της ομάδας ελέγχου, κάτι που θα μπορούσε να είναι ένας παράγοντας σύγχυσης που αποκλείει ένα σίγουρο συμπέρασμα. Στο μέλλον, θα απαιτηθούν προσεκτικά σχεδιασμένες μελέτες που θα εξετάζουν όλα αυτά τα ζητήματα.

Επιπλέον, οι μελέτες που αφορούν τα πρόσθετα τροφίμων και τη μικροχλωρίδα του εντέρου μέχρι στιγμής εστιάζονται κυρίως στην επίδραση ενός μόνο πρόσθετου τροφίμων

στη μικροχλωρίδα του εντέρου. Ωστόσο, πολλά πρόσθετα τροφίμων χρησιμοποιούνται σε συνδυασμό στα επεξεργασμένα τρόφιμα. Περαιτέρω μελέτες είναι απαραίτητες για την αποκρυπτογράφηση των συνδυασμένων επιδράσεων πολλαπλών προσθέτων στη μικροχλωρίδα του εντέρου και έτσι θα αντικατοπτρίζουν την πραγματική κατάσταση της ζωής. Επιπλέον, πολλές μελέτες ανέφεραν μόνο την αλλαγή στη μικροβιακή ποικιλότητα αλλά δεν ανίχνευσαν τις συγκεκριμένες αλλαγές στη μικροβιακή σύνθεση. Ωστόσο, έχει αποδειχθεί ότι η μειωμένη βακτηριακή ποικιλομορφία δεν σημαίνει απαραίτητα κακά αποτελέσματα για την υγεία.

Ως εκ τούτου, οι λειτουργικές αλλαγές που μετρώνται μέσω μεταγονιδιωματικών δεδομένων ή ανάλυσης απόλυτης αφθονίας συγκεκριμένων ειδών μέσω ποσοτικής PCR μπορεί να αντικατοπτρίζουν καλύτερα τον αντίκτυπο του προσθέτου τροφίμων στη μικροχλωρίδα (Zhao et al., 2018). Τελευταίο αλλά εξίσου σημαντικό, πολλές μελέτες έχουν δείξει ότι ορισμένα πρόσθετα τροφίμων θα μπορούσαν να προάγουν τη φλεγμονή ή να επιδεινώσουν μεταβολικές ασθένειες μαζί με αλλαγές στο μικροβίωμα του εντέρου. Ωστόσο, το εάν οι αλλαγές στη μικροχλωρίδα μετά την κατανάλωση πρόσθετων τροφίμων είναι η αιτία ή τα αποτελέσματα των αλλαγών στις μεταβολικές και ανοσοποιητικές λειτουργίες παραμένει άγνωστο και αξίζει μελλοντική διερεύνηση.

Κεφάλαιο 5: Συμπεράσματα και υποδείξεις για περαιτέρω έρευνα

Τα πρόσθετα τροφίμων χρησιμοποιούνται σε τρόφιμα και διαδραματίζουν βασικό ρόλο για να προσδώσουν τεχνολογικά χαρακτηριστικά όπως χρώμα, γεύση, συντήρηση, πυκνωτικά, σταθεροποιητές, γεύση, συντήρηση, γαλακτωματοποιητής ή ρύθμιση οξύτητας. Δεν είναι δυνατόν να αποφευχθεί η χρήση προσθέτων τροφίμων στην επεξεργασία τροφίμων. Ορισμένα από τα πρόσθετα μπορεί να είναι τοξικά ή επιβλαβή για την υγεία. Ως εκ τούτου, υπάρχει επείγουσα ανάγκη εξέτασης τους για κυτταροτοξικότητα, γονοτοξικότητα, μεταλλαξιγένεση, ηπατοτοξικότητα και σχετικές διαταραχές. Οι πλέον επικυρωμένες δοκιμές τοξικότητας βασίζονται κυρίως σε δοκιμές σε πειραματόζωα, η οποία είναι μια δαπανηρή και χρονοβόρα διαδικασία και εξαρτάται από υποθέσεις/παρεκτάσεις. Για να αποφευχθεί η τοξικότητα των προσθέτων τροφίμων στην ανθρώπινη υγεία, πρέπει να αναπτυχθούν οικονομικά αποδοτικές τεχνολογίες. Επιπλέον, θα πρέπει να υπάρχουν ενιαίες παγκόσμιες κατευθυντήριες γραμμές για την κατάσταση αυτών των παραγόντων.

Η χρήση των προσθέτων τροφίμων προκαλεί καταναλωτική δυσπιστία και διαμάχη στο επαγγελματικό κοινό. Η αρνητική στάση σημαντικού αριθμού καταναλωτών λόγω της έλλειψης επίγνωσης της νομοθεσίας που προηγείται της έγκρισης των πρόσθετων τροφίμων μπορεί να αρθεί με ανοιχτή, διαφανή, ανεξάρτητη, υπεύθυνη/έγκαιρη επικοινωνία για τον κίνδυνο. Από την άλλη πλευρά, η έρευνα για την ανεπαρκή επισήμανση, την τοξικότητα και τη χρήση παράνομων προσθέτων τροφίμων απαιτεί συνεχή παρακολούθηση, βελτίωση του συστήματος ελέγχου και εξάλειψη των ελλείψεων. Η ασφαλής χρήση των προσθέτων τροφίμων είναι κοινή ευθύνη του κράτους, των παραγωγών, των διανομέων, του επαγγέλματος, δηλαδή των εργαστηρίων, αλλά και των ίδιων των καταναλωτών.

Τα πρόσθετα τροφίμων είναι πλέον αναπόσπαστο κομμάτι της βιομηχανίας τροφίμων. Εάν χρησιμοποιηθούν ορθά, διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην ασφάλεια, στη ποιότητα, στην διατροφική αξία και στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των παραγόμενων προϊόντων. Η χρήση τους μπορεί να προκαλέσει μια πληθώρα προβλημάτων για την υγεία, τα οποία θα πρέπει να διατηρούνται όσο το δυνατόν χαμηλότερα, έτσι ώστε να μην κινδυνεύει πρακτικά κανείς. Χωρίς πρόσθετα τροφίμων, θα ήταν αδύνατο να διατηρήσουμε τα υψηλά πρότυπα ασφάλειας, επιλογής και ευκολίας στην προμήθεια τροφίμων. Οι αξιολογήσεις κινδύνου-και οφέλους από ειδικούς και καταναλωτές δεν ταιριάζουν απαραίτητα, επειδή οι καταναλωτές περιλαμβάνουν πιο σύνθετους παράγοντες

στις εκτιμήσεις κινδύνου τους από τους ειδικούς (δηλαδή, προσωπικές αξίες, επιρροή κτλ). Αυτό μπορεί να οδηγήσει τους καταναλωτές να απορρίπτουν τα πρόσθετα τροφίμων παρά τα οφέλη τους. Οι αντιλήψεις των καταναλωτών και οι συνακόλουθες ενέργειες καθορίζουν το εμπορικό μέλλον οποιουδήποτε συστατικού τροφίμου. Η ασφάλεια των τροφίμων επηρεάζει την επιλογή των καταναλωτών με τρόπους που διαφέρουν από άλλες διαστάσεις της ποιότητας. Στην περίπτωση αυτή, ο στόχος της επικοινωνίας κινδύνου θα πρέπει να είναι η παγίωση αυτών των απόψεων και η δυνατότητα στους καταναλωτές να λαμβάνουν τεκμηριωμένες αποφάσεις σχετικά με τα πρόσθετα τροφίμων.

Υπάρχει διαμάχη για την παρουσία μολυσματικών ουσιών και τη χρήση ορισμένων κοινών προσθέτων στα τρόφιμα. Αυτό οφείλεται εν μέρει στο ότι ορισμένα άτομα είναι υπερευαίσθητα και υποφέρουν από αλλεργικές αντιδράσεις εάν εκτεθούν σε ορισμένες από αυτές τις χημικές ουσίες. Επίσης, ορισμένα άτομα πιστεύουν ότι χαμηλά επίπεδα χρόνιας τοξικότητας και ασθενειών μπορεί να προκληθούν στους μεγαλύτερους πληθυσμούς από την έκθεση σε ορισμένες από αυτές τις χημικές ουσίες. Αν και δεν υπάρχουν πειστικές επιστημονικές αποδείξεις ότι αυτό βεβαίως ισχύει, η πιθανότητα χρόνιας βλάβης που προκαλείται από πρόσθετα και χημικά υπολείμματα στα τρόφιμα είναι ένα σημαντικό κοινωνικό και επιστημονικό ζήτημα. Τα πρόσθετα τροφίμων μπορεί να είναι άμεσα ή έμμεσα. Άμεσα πρόσθετα είναι τα πρόσθετα που προστίθενται σκόπιμα σε τρόφιμα για συγκεκριμένο σκοπό, ενώ τα έμμεσα πρόσθετα είναι τα πρόσθετα στα οποία εκτίθεται το τρόφιμο κατά τα στάδια επεξεργασίας, συσκευασίας ή αποθήκευσης. Τα συντηρητικά είναι πρόσθετα που εμποδίζουν την ανάπτυξη βακτηρίων, μούχλας και ζυμομυκήτων στα τρόφιμα. Η χρήση προσθέτων στα τρόφιμα δικαιολογείται μόνο όταν η χρήση τους δεν παραπλανά τους καταναλωτές, έχει τεχνολογικές ανάγκες και εξυπηρετεί σαφώς καθορισμένη τεχνολογική λειτουργία, όπως η ενίσχυση της σταθερότητας του τροφίμου ή η διατήρηση της διατροφικής ποιότητας του τροφίμου.

Θα πρέπει επομένως να δοθεί ιδιαίτερη προσοχή στη διαχείριση των προσθέτων που χρησιμοποιούνται στα τρόφιμα και θα πρέπει να ληφθούν μέτρα για τον έλεγχο της υπερβολικής χρήσης και κατάχρησής τους.

Πρωτίστως, περισσότερες πληροφορίες σχετικά με τη σωστή χρήση τους θα πρέπει να παρέχονται στους παραγωγούς και χρήστες, μέσω καθοδήγησης, εκπαίδευσης ή κατευθυντήριων γραμμών. Δεύτερον, η χρήση των πρόσθετων τροφίμων στη βιομηχανία τροφίμων θα πρέπει να επιτηρείται και να επιθεωρείται. Τρίτον, τα τρόφιμα θα πρέπει να

επεξεργάζονται πιο αυστηρά, με σκοπό τον μεγαλύτερο βαθμό πρόληψης των προβλημάτων που οφείλονται στα τρόφιμα. Λ.χ. οι βρώσιμοι μύκητες, οι ξηροί καρποί και οι σπόροι, τα λαχανικά τουρσί και το ψωμί στον ατμό θα πρέπει να αντιμετωπίζονται πιο αυστηρά επειδή αποτελούν την κύρια πηγή θειωδών αλάτων στα τρόφιμα, γεγονός που καθιστά απαραίτητη τη επιθεώρηση της χρήσης πρόσθετων θειωδών σε τέτοια τρόφιμα.

Υποβάλλονται παρακάτω ορισμένες προτάσεις για την ακριβέστερη εκτίμηση κινδύνου των προσθέτων. Πρώτον, η περιεκτικότητα σε πρόσθετα στα τρόφιμα θα πρέπει να παρακολουθείται σε ευρύτερο εύρος με τη χρήση του Εθνικού Συστήματος Παρακολούθησης Ρύπων για να επιτευχθεί ένα πιο ολοκληρωμένο αποτέλεσμα. Δεύτερον, θα πρέπει να μελετηθεί η επίδραση της επεξεργασίας και του χειρισμού στην περιεκτικότητα σε πρόσθετα στα τρόφιμα. Τρίτον, θα πρέπει να συλλέγονται δεδομένα για την περιεκτικότητα των προσθέτων σε έτοιμα προς κατανάλωση τρόφιμα για την αξιολόγηση του κινδύνου τους. Μερικά από αυτά μπορεί να χρειαστεί να προσαρμοστούν μετά από ορισμένες εκτιμήσεις κινδύνου. Για παράδειγμα, το MPL στις κομπόστες, τα μπισκότα, τη ζάχαρη και το κρασί από φρούτα θα πρέπει να μειωθεί ενώ στα αποξηραμένα φρούτα, το άμυλο, το κρασί και η μύρα θα πρέπει να αυξηθεί. Επιπλέον, η ανάπτυξη MPL για υδρόβια προϊόντα και αλκοολούχα ποτά μπορεί να εξεταστεί σύμφωνα με τις απαιτήσεις της βιομηχανίας τροφίμων.

Σύμφωνα με τους ειδικούς, οι μελλοντικές ανακοινώσεις σχετικά με τα πρόσθετα τροφίμων στα τρόφιμα θα μπορούσαν να στοχεύουν συμπεριφορές, απομακρύνοντάς τη νοοτροπία του καταναλωτή από την αντίληψη ότι «το συνθετικό ισούται με επικίνδυνο».. Στην Ελλάδα υπάρχει μεγάλη ανάγκη για διατροφική εκπαίδευση. Αυτό είναι κάτι επιθυμητό όχι μόνο στη χώρα μας. Τα πρόσθετα των τροφίμων είναι ένα πολύπλευρο και αναπόφευκτο ζήτημα, αφού τα σύγχρονα τρόφιμα βασίζονται σε αυτά. Στο γενικό πλαίσιο της αφθονίας των επεξεργασμένων τροφίμων, είναι καθήκον τόσο της βιομηχανίας όσο και των κυβερνητικών φορέων να επικοινωνούν επαρκώς με το ευρύ κοινό σχετικά με τα πρόσθετα τροφίμων και να βρίσκουν ανοιχτά κανάλια που φτάνουν σε καταναλωτές όλων των ηλικιών και βαθμίδων εκπαίδευσης. Διαφορετικά, τα πρόσθετα θα παρεξηγηθούν περαιτέρω και θα παίζουν τον ρόλο του αποδιοπομπαίου τράγου στους ανθυγιεινούς τρόπους ζωής.

Πολλά προβλήματα, όπως το ζήτημα των προσθέτων τροφίμων, είναι τώρα πιο παγκόσμια από ποτέ (π.χ. ρύπανση, ακτινοβολία, μείωση της στιβάδας του όζοντος και

παροχή και ποιότητα νερού και διατροφής). Επομένως, θα πρέπει να λάβουμε μια ευρύτερη οπτική των προβλημάτων, και ειδικότερα θα πρέπει να σταθμίσουμε τα ζητήματα της εξουσίας, της εξουσίας και της ισότητας από μια παγκόσμια προοπτική.

Επιπλέον, προηγουμένως πιο τοπικά προβλήματα (π.χ. η ανεργία και η φροντίδα των ηλικιωμένων) δεν έχουν εξαφανιστεί και πρέπει να αντιμετωπιστούν. Κατά συνέπεια, στις περισσότερες από τις ανεπτυγμένες χώρες υπάρχει μια συνεχής συζήτηση για τη σχετική σοβαρότητα των προβλημάτων και για τη σειρά με την οποία πρέπει να επιλυθούν. Με βάση τα αποτελέσματα του δείγματος της Φινλανδίας, οι λαϊκοί θα μπορούσαν κάλλιστα να είναι προετοιμασμένοι για μια πιο ανοιχτή δημόσια συζήτηση σχετικά με αυτά τα προβλήματα — τουλάχιστον σχετικά με τις διαδικασίες γενικής ρύθμισης, όπως στην περίπτωση των πρόσθετων τροφίμων.⁴¹

Υπάρχουν πολλές ενδείξεις υποστήριξης για να γίνει η κοινωνία πολύ πιο επικοινωνιακή από ό,τι είναι σήμερα σχετικά με τέτοια ανοιχτά ερωτήματα και τους διάφορους κινδύνους που εμπεριέχονται. Τουλάχιστον φαίνεται ότι δεν υπάρχουν αποδεκτοί λόγοι για τους οποίους τα προβλήματα και οι ανοιχτές ερωτήσεις θα πρέπει να απορρίπτονται, να συγκαλύπτονται ή να μετριάζονται είτε από τη βιομηχανία, την ακαδημαϊκή κοινότητα ή την κυβέρνηση με τη δικαιολογία ότι οι λαϊκοί άνθρωποι δεν είναι ικανοί ή αρκετά εκπαιδευμένοι να χειριστούν πληροφορίες για πολύπλοκα θέματα. Δεν αμφισβητείται ότι οι επιστημονικές κρίσεις σχετίζονται με αποφάσεις πολιτικής για την ασφάλεια των τροφίμων, ωστόσο, η συζήτηση αφορά, μεταξύ άλλων, τον ρόλο των ηθικών κριτηρίων και τη σχέση τους με την επιστήμη. Σε αυτή τη διαδικασία διαπραγμάτευσης σχετικά με την ηθική και την επιστήμη «η Το ευρύ κοινό αξίζει επίσης τη θέση του στο τραπέζι».

Η πιθανότητα τοξικότητας μεταξύ τέτοιων ποικίλων χημικών δομών σημαίνει ότι όλες οι νέες χημικές οντότητες πρέπει να θεωρούνται τοξικές μέχρι να αποδειχθεί η ασφάλειά τους. Η επιλογή μιας συγκεκριμένης μεθόδου για την αξιολόγηση μιας ένωσης δεν μπορεί επομένως να βασίζεται στη χημεία της μόνο ή στον αναμενόμενο μηχανισμό δράσης της. Επίσης, λόγω των συχνά αντικρουόμενων αποτελεσμάτων και των ανεπαρκών δεδομένων για την οριστική κατηγοριοποίηση πολλών ουσιών που χρησιμοποιούνται συνήθως ως ασφαλείς ή καρκινογόνες, υπάρχει ανάγκη για συνεχή αξιολόγηση των νέων χημικών ουσιών αλλά και των υπαρχόντων.

Κεφάλαιο 6: Βιβλιογραφία

- Adeolu, M., Alnajar, S., Naushad, S., & Gupta, R. S. (2016). Genome-based phylogeny and taxonomy of the 'Enterobacteriales': proposal for Enterobacterales ord. nov. divided into the families Enterobacteriaceae, Erwiniaceae fam. nov., Pectobacteriaceae fam. nov., Yersiniaceae fam. nov., Hafniaceae fam. nov., Morgane. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 66(12), 5575–5599.
- Angulo, A. M., & Gil, J. M. (2007). Risk perception and consumer willingness to pay for certified beef in Spain. *Food Quality and Preference*, 18(8), 1106–1117.
- Anon. (2004). Position of the American Dietetic Association: use of nutritive and nonnutritive sweeteners. *Journal of the American Dietetic Association*, 2(104), 255–275.
- ANS. (2012). Guidance for submission for food additive evaluations. *EFSA Journal*, 10(7), 2760.
- Bahn\`ik, Š., & Vranka, M. A. (2017). If it's difficult to pronounce, it might not be risky: The effect of fluency on judgment of risk does not generalize to new stimuli. *Psychological Science*, 28(4), 427–436.
- Bateman, B., Warner, J. O., Hutchinson, E., Dean, T., Rowlandson, P., Gant, C., Grundy, J., Fitzgerald, C., & Stevenson, J. (2004). The effects of a double blind, placebo controlled, artificial food colourings and benzoate preservative challenge on hyperactivity in a general population sample of preschool children. *Archives of Disease in Childhood*, 89(6), 506–511.
- Bearth, A., Cousin, M.-E., & Siegrist, M. (2014). The consumer's perception of artificial food additives: Influences on acceptance, risk and benefit perceptions. *Food Quality and Preference*, 38, 14–23.
- Bettini, S., Boutet-Robinet, E., Cartier, C., Coméra, C., Gaultier, E., Dupuy, J., Naud, N., Taché, S., Gysan, P., Reguer, S., & others. (2017). Food-grade TiO₂ impairs intestinal and systemic immune homeostasis, initiates preneoplastic lesions and promotes aberrant crypt development in the rat colon. *Scientific Reports*, 7(1), 1–13.
- Bian, X., Chi, L., Gao, B., Tu, P., Ru, H., & Lu, K. (2017). The artificial sweetener acesulfame potassium affects the gut microbiome and body weight gain in CD-1 mice. *PloS One*, 12(6), e0178426.

- Bruyère, O., Ahmed, S. H., Atlan, C., Belegaud, J., Bortolotti, M., Canivenc-Lavier, M.-C., Charrière, S., Girardet, J.-P., Houdart, S., Kalonji, E., & others. (2015). Review of the nutritional benefits and risks related to intense sweeteners. *Archives of Public Health*, *73*(1), 1–10.
- Butchko, H. H., Stargel, W. W., Comer, C. P., Mayhew, D. A., Benninger, C., Blackburn, G. L., de Sonneville, L. M. J., Geha, R. S., Hertelendy, Z., Koestner, A., & others. (2002). Aspartame: review of safety. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, *35*(2), S1--S93.
- Carocho, M., Morales, P., & Ferreira, I. C. F. R. (2017). Sweeteners as food additives in the XXI century: A review of what is known, and what is to come. *Food and Chemical Toxicology*, *107*, 302–317.
- Christensen, T., Mørkbak, M. R., Evald, S. S. T., & Jensen, J. D. (2011). Danish consumers' perceptions of food additives and other technologies. *FOI Commissioned Work*, *2011/4*.
- Clydesdale, F. M. (1982). Nutritional consequences of technology. *Journal of Food Protection*, *45*(9), 859–864.
- EFSA. (2016). Re-evaluation of titanium dioxide (E 171) as a food additive. *EFSA Journal*, *14*(9), e04545.
- Fagherazzi, G., Vilier, A., Saes Sartorelli, D., Lajous, M., Balkau, B., & Clavel-Chapelon, F. (2013). Consumption of artificially and sugar-sweetened beverages and incident type 2 diabetes in the Etude Epidémiologique auprès des femmes de la Mutuelle Générale de l'Éducation Nationale--European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition cohort. *The American Journal of Clinical Nutrition*, *97*(3), 517–523.
- Frankenfeld, C. L., Sikaroodi, M., Lamb, E., Shoemaker, S., & Gillevet, P. M. (2015). High-intensity sweetener consumption and gut microbiome content and predicted gene function in a cross-sectional study of adults in the United States. *Annals of Epidemiology*, *25*(10), 736–742.
- Gizaw, Z. (2019). Public health risks related to food safety issues in the food market: a systematic literature review. *Environmental Health and Preventive Medicine*, *24*(1), 1–21.
- He, X., & Hwang, H.-M. (2016). Nanotechnology in food science: Functionality, applicability, and safety assessment. *Journal of Food and Drug Analysis*, *24*(4), 671–681.

- Houdeau, E., Lamas, B., Lison, D., & Pierre, F. (2018). Nanoparticules et alimentation: un risque émergent en santé humaine? *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 53(6), 312–321.
- Ismail, B. B., & Yusuf, H. L. (2014). Consumer concerns about the use of additives in processed foods. *International Journal of Current Research and Review*, 6(9), 65.
- Joint, F. A. O., Organization, W. H., on Food Additives, W. H. O. E. C., & others. (2013). *Evaluation of certain food additives and contaminants: seventy-seventh report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives*. World Health Organization.
- Kobylewski, S., & Jacobson, M. F. (2012). Toxicology of food dyes. *International Journal of Occupational and Environmental Health*, 18(3), 220–246.
- Koyratty, B. N. S., Aumjaud, B., & Neeliah, S. A. (2014). Food additive control: a survey among selected consumers and manufacturers. *British Food Journal*.
- Maleev, V. A., Bezpachenko, V. M., & Semenchenko, O. O. (2018). Evaluation, risks, analysis of consumption of food additives. *Вестник Херсонского*, 1(222), 124–128.
- Mallett, A. K., Rowland, I. R., Bearne, C. A., Purchase, R., & Gangolli, S. D. (1985). Metabolic adaptation of rat faecal microflora to cyclamate in vitro. *Food and Chemical Toxicology*, 23(12), 1029–1034.
- MATSUI, M., HAYASHI, N., KONUMA, H., TANIMURA, A., & KURATA, H. (1976). Studies on Metabolism of Food Additives by Microorganisms Inhabiting Gastrointestinal Tract (IV) Fate of Faecal Flora in Monkey Administered Orally Sodium Cyclamate and Detection of Sodium Cyclamate Assimilating Bacteria in vitro by Anaerobic Culture. *Food Hygiene and Safety Science (Shokuhin Eiseigaku Zasshi)*, 17(1), 54--58\1.
- McCann, D., Barrett, A., Cooper, A., Crumpler, D., Dalen, L., Grimshaw, K., Kitchin, E., Lok, K., Porteous, L., Prince, E., & others. (2007). 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. *The Lancet*, 370(9598), 1560–1567.
- McNutt, K. W., Powers, M. E., & Sloan, A. E. (1986). Food colors, flavors, and safety: a consumer viewpoint. *Food Technology (USA)*.

- Mfueni, E., Gama, A. P., Kabambe, P., Chimbaza, M., Matita, G., & Matumba, L. (2018). Food allergen labeling in developing countries: Insights based on current allergen labeling practices in Malawi. *Food Control*, *84*, 263–267.
- Miclotte, L., de Paepe, K., Rymenans, L., Callewaert, C., Raes, J., Rajkovic, A., van Camp, J., & de Wiele, T. (2020). Dietary emulsifiers alter composition and activity of the human gut microbiota in vitro, irrespective of chemical or natural emulsifier origin. *Frontiers in Microbiology*, *11*, 577474.
- Nettleton, J. A., Lutsey, P. L., Wang, Y., Lima, J. A., Michos, E. D., & Jacobs Jr, D. R. (2009). Diet soda intake and risk of incident metabolic syndrome and type 2 diabetes in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *Diabetes Care*, *32*(4), 688–694.
- NRC. (1980). *Mineral tolerance of domestic animals* (Issue 3022). National Academies Press.
- Paek, H.-J., & Hove, T. (2017). Risk perceptions and risk characteristics. In *Oxford research encyclopedia of communication*.
- Palmnäs, M., Cowan, T. E., Bomhof, M. R., Su, J., & Reimer, R. A. (2014). Low-Dose Aspartame Consumption Differentially Affects Gut Microbiota-Host Metabolic Interactions in the Diet-Induced Obese Rat. *PLoS ONE*, *9*(10), 109841. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0109841>
- Partridge, D., Lloyd, K. A., Rhodes, J. M., Walker, A. W., Johnstone, A. M., & Campbell, B. J. (2019). Food additives: Assessing the impact of exposure to permitted emulsifiers on bowel and metabolic health--introducing the FADiets study. *Nutrition Bulletin*, *44*(4), 329–349.
- Persson, P.-G., Ahlbom, A., & Hellers, G. (1992). Diet and inflammatory bowel disease: a case-control study. *Epidemiology*, 47–52.
- Pimenta, S. de F. (2003). *Percepção da população do Distrito Federal quanto ao risco da presença de contaminantes químicos em alimentos*.
- Redbook, F. D. A. (2000). Chapter IV. C. 4. a Subchronic Toxicity Studies with Rodents. *Toxicological Principles for the Safety Assessment of Food Ingredients*. < [Http://Www. Fda. Gov/Food/Guidancecomplianceregulatoryinformation/Guidancedocuments/Foodingredientsandpackaging/Redbook/Ucm078345. Htm](http://www.fda.gov/food/guidancecomplianceregulatoryinformation/Guidancedocuments/Foodingredientsandpackaging/Redbook/Ucm078345.htm).
- Roberts, C. L., Rushworth, S. L., Richman, E., & Rhodes, J. M. (2013). Hypothesis: increased consumption of emulsifiers as an explanation for the

rising incidence of Crohn's disease. *Journal of Crohn's and Colitis*, 7(4), 338–341.

- Roberts, H. R. (1981). *Food safety*. Wiley.
- Rodriguez-Palacios, A., Harding, A., Menghini, P., Himmelman, C., Retuerto, M., Nickerson, K. P., Lam, M., Croniger, C. M., McLean, M. H., Durum, S. K., & others. (2018). The artificial sweetener splenda promotes gut proteobacteria, dysbiosis, and myeloperoxidase reactivity in Crohn's disease--like ileitis. *Inflammatory Bowel Diseases*, 24(5), 1005–1020.
- Ruiz-Ojeda, F. J., Plaza-Diaz, J., Sáez-Lara, M. J., & Gil, A. (2019). Effects of sweeteners on the gut microbiota: a review of experimental studies and clinical trials. *Advances in Nutrition*, 10(suppl_1), S31--S48.
- Sakurai, M., Nakamura, K., Miura, K., Takamura, T., Yoshita, K., Nagasawa, S. Y., Morikawa, Y., Ishizaki, M., Kido, T., Naruse, Y., & others. (2014). Sugar-sweetened beverage and diet soda consumption and the 7-year risk for type 2 diabetes mellitus in middle-aged Japanese men. *European Journal of Nutrition*, 53(1), 251–258.
- Schernhammer, E. S., Bertrand, K. A., Birmann, B. M., Sampson, L., Willett, W. C., & Feskanich, D. (2012). Consumption of artificial sweetener--and sugar-containing soda and risk of lymphoma and leukemia in men and women. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 96(6), 1419–1428.
- Simonson, I., & Drolet, A. (2004). Anchoring effects on consumers' willingness-to-pay and willingness-to-accept. *Journal of Consumer Research*, 31(3), 681–690.
- Sloan, A. E., Powers, M. E., & Hom, B. (1986). Consumer attitudes toward additives. *Cereal Foods World (USA)*.
- Slovic, P., Fischhoff, B., & Lichtenstein, S. (1980). Facts and fears: Understanding perceived risk. In *Societal risk assessment* (pp. 181–216). Springer.
- Smolyar, V. I. (2009). Modern problems of using nutritional additives. *Problems of Nutrition*, 1–2, 5–10.
- Song, H., & Schwarz, N. (2009). If it's difficult to pronounce, it must be risky: Fluency, familiarity, and risk perception. *Psychological Science*, 20(2), 135–138.

- Sood, M. (2014). The supervision of government on implementation of import of processed food products in effort of legal protection for consumers. *JL Pol'y & Globalization*, 25, 72.
- Stevens, L. J., Burgess, J. R., Stochelski, M. A., & Kuczek, T. (2014). Amounts of artificial food colors in commonly consumed beverages and potential behavioral implications for consumption in children. *Clinical Pediatrics*, 53(2), 133–140.
- Suez, J., Korem, T., Zeevi, D., Zilberman-Schapira, G., Thaiss, C. A., Maza, O., Israeli, D., Zmora, N., Gilad, S., Weinberger, A., & others. (2014). Artificial sweeteners induce glucose intolerance by altering the gut microbiota. *Nature*, 514(7521), 181–186.
- Sweis, I. E., & Cressey, B. C. (2018). Potential role of the common food additive manufactured citric acid in eliciting significant inflammatory reactions contributing to serious disease states: A series of four case reports. *Toxicology Reports*, 5, 808–812.
- Tandel, K. R. (2011). Sugar substitutes: Health controversy over perceived benefits. *Journal of Pharmacology and Pharmacotherapeutics*, 2(4), 236–243.
- Tang, W. H. W., Wang, Z., Levison, B. S., Koeth, R. A., Britt, E. B., Fu, X., Wu, Y., & Hazen, S. L. (2013). Intestinal microbial metabolism of phosphatidylcholine and cardiovascular risk. *New England Journal of Medicine*, 368(17), 1575–1584.
- Tarnavölgyi, G. (2003). Analysis of consumers attitudes towards food additives using focus group survey. *Agriculturae Conspectus Scientificus*, 68(3), 193–196.
- Tolman, E. C. (1932). *Purposive behavior in animals and men*. Univ of California Press.
- Uebanso, T., Ohnishi, A., Kitayama, R., Yoshimoto, A., Nakahashi, M., Shimohata, T., Mawatari, K., & Takahashi, A. (2017). Effects of low-dose non-caloric sweetener consumption on gut microbiota in mice. *Nutrients*, 9(6), 560.
- van Gunst, A., & Roodenburg, A. J. C. (2019). Consumer distrust about E-numbers: a qualitative study among food experts. *Foods*, 8(5), 178.
- Vilet, E. (2011). Current standing and future prospects for the technologies proposed to transform toxicity testing in the 21st century. *ALTEX*, 17–44.
- Winter, C. K., & Francis, F. J. (1997). Assessing, managing, and communicating chemical food risks. *Food Technology*.

- Wood, C. M., & Scheer, L. K. (1996). Incorporating perceived risk into models of consumer deal assessment and purchase intent. *ACR North American Advances*.
- Wu, L., Zhang, Q., Shan, L., & Chen, Z. (2013). Identifying critical factors influencing the use of additives by food enterprises in China. *Food Control*, 31(2), 425–432.
- Zhong, Y., Wu, L., Chen, X., Huang, Z., & Hu, W. (2018). Effects of food-additive-information on consumers' willingness to accept food with additives. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 15(11). <https://doi.org/10.3390/ijerph15112394>
- Zibrik, D; Peters, H; Kuhnlein, H. (1981). Knowledge and Attitudes of Vancouver residents towards food additives. *Canadian Journal of Public Health*, 72, 49–54.