

Ахальцева Л.В., Юрченко В.В., Юрцева Н.А., Коняшкина М.А.

Оценка генотоксичности пищевого красителя Жёлтый «солнечный закат» в микроядерном тесте *in vivo*

ФГБУ «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью»
Федерального медико-биологического агентства, 119121, Москва, Россия

Введение. Пищевой азокраситель Жёлтый «солнечный закат» (Sunset Yellow FCF, E110) активно используется для придания продуктам питания, фармакологическим и косметическим средствам жёлто-оранжевых оттенков. Контроль потребления, а также качество самих синтетических пищевых красителей волнует исследователей различных стран, в том числе стран — производителей данного сегмента пищевых добавок, используемых и в отечественной пищевой промышленности. Поэтому актуальна оценка безопасности азокрасителей, в том числе на генотоксичность.

Материалы и методы. Генотоксичность азокрасителя Жёлтый «солнечный закат» (производство Индия, чистота 90,46%) изучена в микроядерном тесте на клетках костного мозга самцов мышей (гибриды F1 CBA × C57Bl6/j). Исследуемый образец двукратно вводили в желудок мышей в интервале доз 250–2000 мг/кг. Частоту полихроматофильных эритроцитов (ПХЭ) с микроядрами (МЯ) оценивали по результатам анализа 4000 ПХЭ. Долю ПХЭ среди всех эритроцитов определяли при анализе 500 клеток на каждое животное.

Результаты. Не наблюдалось изменения доли ПХЭ при введении азокрасителя Жёлтый «солнечный закат» во всём диапазоне изученных доз. Выявлено достоверное повышение частоты ПХЭ с МЯ над параллельным отрицательным контролем в максимальной дозе, выходящее за пределы верхнего 95%-го ДИ накопленного отрицательного контроля, и линейная зависимость эффекта от дозы.

Ограничения исследования. Полученные данные не позволяют определить механизм генотоксического действия исследуемого вещества.

Заключение. Изученный образец пищевого красителя Жёлтый «солнечный закат» в условиях двукратного введения проявил слабую цитогенетическую активность в микроядерном тесте *in vivo* на клетках костного мозга мышей.

Ключевые слова: генотоксичность пищевых синтетических азокрасителей; Жёлтый «солнечный закат» FCF (E110); микроядерный тест *in vivo*; полихроматофильные эритроциты; костный мозг; мыши

Соблюдение этических стандартов. Исследование одобрено локальным этическим комитетом НИИ ЭДиТО ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, проведено в соответствии с Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (ETS N 123), директивой Европейского парламента и Совета Европейского союза 2010/63/ЕС от 22.09.2010 г. о защите животных, использующихся для научных целей.

Для цитирования: Ахальцева Л.В., Юрченко В.В., Юрцева Н.А., Коняшкина М.А. Оценка генотоксичности пищевого красителя Жёлтый «солнечный закат» в микроядерном тесте *in vivo*. *Гигиена и санитария*. 2022; 101(9): 1093–1097. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2022-101-9-1093-1097> <https://www.elibrary.ru/zwhjps>

Для корреспонденции: Ахальцева Людмила Вячеславовна, канд. биол. наук, ст. науч. сотр. отд. профилактической токсикологии и медико-биологических исследований ФГБУ «ЦСП» ФМБА России, 119121, Москва. E-mail: LAhalceva@csprm.ru

Участие авторов: Ахальцева Л.В. — цитомный анализ, поиск источников литературы, анализ данных литературы, написание текста; Юрченко В.В. — концепция и дизайн исследования, работа с животными, приготовление препаратов для цитомного анализа, статистический анализ, анализ данных литературы, написание текста; Юрцева Н.А. — работа с животными, приготовление препаратов для цитомного анализа, цитомный анализ, поиск источников литературы; Коняшкина М.А. — работа с животными, приготовление препаратов для цитомного анализа, поиск источников литературы, анализ данных литературы. Все соавторы — утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов в связи с публикацией данной статьи.

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания «Комплексная система оценки генотоксичности пищевых добавок» ФГБУ «ЦСП» ФМБА России.

Поступила: 26.07.2022 / Принята к печати: 04.08.2022 / Опубликована: 30.09.2022

Lyudmila V. Akhaltseva, Valentina V. Yurchenko, Nadezda A. Yurtseva, Mariya A. Konyashkina

Evaluation of the genotoxicity of the food dye Sunset Yellow FCF in a micronucleus test *in vivo*

Centre for Strategic Planning of FMBA of Russia, Moscow, 119121, Russian Federation

Introduction. Sunset Yellow food azo dye (E110) is actively used to impart yellow–orange hues to food, pharmacological and cosmetic products. The control of consumption and the quality of the synthetic food dyes themselves, worries researchers from various countries, including the countries producing this segment of food additives, which are also used in the domestic food industry. Therefore, the safety assessment of azo dyes, including genotoxicity, is relevant.

Materials and methods. Genotoxicity of the Sunset Yellow (produced in India, purity being 90,46%) was studied in the micronucleus test on bone marrow cells (hybrids F1 CBA × C57Bl6/j) in male mice. The test sample was injected twice into mice stomach in the dose range of 250–2000 mg/kg. The frequency of polychromatophilic erythrocytes (PCEs) with micronuclei was estimated by analysis of 4000 PCEs. The proportion of PCEs among all erythrocytes was determined by analyzing of 500 cells per animal.

Results. No change in the proportion of PCEs was observed with the introduction of Sunset Yellow over the entire range of doses studied. We revealed a significant increase in the frequency of PCE with micronuclei over the parallel negative control at the maximum dose, going beyond the upper 95% CI of the accumulated negative control, a linear dependence of the effect on the dose.

Limitations. The data obtained do not allow us to determine the mechanism of the genotoxic action of the test substance.

Conclusion. The studied sample of Sunset Yellow food colouring under conditions of double injection showed poor cytogenetic activity *in vivo* micronucleus test on bone marrow cells in mice.

Keywords: genotoxicity of food synthetic azo dyes; Sunset Yellow FCF (E 110); *in vivo* micronucleus test; polychromatophilic erythrocytes; bone marrow; mice

Compliance with ethical standards. The study was approved by the local ethical committee of the Research Institute of EDiTO of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of the Russian Federation, carried out under the European Convention for the Protection of Vertebrate

Animals Used for Experiments or Other Scientific Purposes (ETS N 123), Directive of the European Parliament and Council of the European Union 2010/63/EU of 22.09.2010 on the protection of animals used for scientific purposes.

For citation: Akhaltseva L.V., Yurchenko V.V., Yurtseva N.A., Konyashkina M.A. Evaluation of the genotoxicity of the food dye Sunset Yellow FCF in a micronucleus test *in vivo*. *Gigiena i Sanitariya (Hygiene and Sanitation, Russian journal)*. 2022; 101(9): 1093-1097. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2022-101-9-1093-1097> <https://www.elibrary.ru/zwhjps> (In Russian)

For correspondence: Lyudmila V. Akhaltseva, MD, PhD, Senior Researcher of the Department of Preventive Toxicology and Biomedical Research of the Centre for Strategic Planning of FMBA of Russia, Moscow, 119121, Russian Federation. E-mail: LAhaltseva@cspmz.ru

Information about the authors:

Akhaltseva L.V., <https://orcid.org/0000-0002-3619-3858>

Yurchenko V.V., <https://orcid.org/0000-0003-4377-245X>

Yurtseva N.A., <https://orcid.org/0000-0001-5031-2916>

Konyashkina M.A., <https://orcid.org/0000-0002-8319-1329>

Contribution: Akhaltseva L.V. — cytome analysis, search for literature sources, analysis of literature, writing a text; Yurchenko V.V. — concept and design of the study, work with animals, preparation of preparations for cytome analysis, statistical analysis, analysis of literature, writing a text; Yurtseva N.A. — work with animals, preparation of preparations for cytome analysis, cytome analysis, search for literature sources; Konyashkina M.A. — work with animals, preparation of preparations for cytome analysis; search for literature sources, analysis of literature. All authors are responsible for the integrity of all parts of the manuscript and approval of the manuscript final version.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgment. The work was carried out within the framework of the state task «Complex system for assessing the genotoxicity of food additives» Centre for Strategic Planning of FMBA of Russia.

Received: July 26, 2022 / Accepted: August 04, 2022 / Published: September 30, 2022

Введение

В процессе производства продуктов питания, лекарственных препаратов и косметических средств широкое распространение получили синтетические пищевые азокрасители, в том числе Жёлтый «солнечный закат» (Sunset Yellow FCF, E110), используемый для придания продукции жёлто-оранжевых оттенков. Краситель обладает высокой устойчивостью к различным факторам технологических процессов [1] и наиболее широко применяется в пищевой промышленности при производстве различных напитков (безалкогольных и алкогольных), кондитерских изделий, соусов, рыбной и другой продукции [2]. В нашей стране Жёлтый «солнечный закат» (ЖСЗ) также используется в качестве корректирующего вещества в фармацевтической промышленности, однако запрещён к применению в лекарственных препаратах для детей ввиду возможной аллергической реакции [3].

Вопрос соблюдения норм применения пищевых красителей (ПК) не теряет своей актуальности, несмотря на строгий контроль со стороны надзорных органов. В кондитерских изделиях, мороженом, напитках находят не только превышение содержания заявленных ПК, но и не указанные на этикетке синтетические [4–9], что в свою очередь может увеличить уровень воздействия на организм человека. Контроль потребления, а также качество самих синтетических ПК волнуют исследователей разных стран, в том числе стран — производителей пищевых добавок данного сегмента, используемых и в отечественной пищевой промышленности [10–12].

При определении безопасности конкретной пищевой добавки и дальнейшего разрешения её к применению группа экспертов Европейского агентства по безопасности пищевых продуктов (EFSA) анализирует результаты доступных в настоящий момент научных исследований, в том числе по генотоксичности, с возможной переоценкой заключения при появлении новых данных. По состоянию на 2009 г. группы экспертов EFSA пришли к выводу, что ПК ЖСЗ не является генотоксичным [13], а в 2014 г. подняли уровень допустимой суточной дозы до 4 мг/кг массы тела для всех групп населения на основе уточнённых данных токсикологических и гигиенических исследований [14].

Одним из тестов для оценки генотоксического потенциала различных факторов окружающей среды является микроядерный (МЯ) тест на клетках костного мозга и/или клетках периферической крови (ретикулоциты) млекопитающих (обычно мышей или крыс) [15]. Тест основан на анализе полихроматофильных эритроцитов (ПХЭ), содержащих микроядра (МЯ), образованные фрагментами или целыми хромосомами, оставшимися в цитоплазме после вытеснения основного ядра. Основным признаком индуцированного

повреждения хромосом является достоверное увеличение частоты ПХЭ с МЯ у животных, обработанных испытуемым веществом, в сравнении с контрольными. В настоящей работе проведена оценка генотоксичности пищевого красителя ЖСЗ в МЯ-тесте. Это наше второе исследование по изучению пищевых азокрасителей. Ранее был получен отрицательный результат в эксперименте по оценке генотоксического потенциала Тартразина.

Материалы и методы

Оценивали образец пищевого красителя Жёлтый «солнечный закат», серия 1007561635-1007581734 производства Roha Dueschem PVT. LTD (Индия), чистота 90,46%. Была представлена копия сертификата от завода-производителя с результатами анализа, удовлетворяющими требованиям Директивы Комиссии Европейского союза 2012/231/ЕС [16].

Оценку цитогенетической активности ПК проводили с использованием конвенциональных самцов-мышей гибридов F1(СВА × С57В16/j) двухмесячного возраста (НПП «Питомник лабораторных животных» ФИБХ РАН). В состав каждой группы входили по 6 особей (средняя масса тела $22,96 \pm 1,30$ г). Животных содержали при 12-часовом световом режиме в условиях свободного доступа к воде и пище.

В соответствии с официальными документами [15, 17] применяли пероральный путь введения исследуемого образца мышам с учётом того, что применение красителей в пищевой промышленности предусматривает поступление в организм человека с пищей. В качестве максимальной использовали дозу 2000 мг/кг, принятую для испытания соединений низкой токсичности (по данным литературы, ЛД₅₀ для мышей при введении в желудок составляет для ЖСЗ > 6 г/кг) [13].

Непосредственно перед применением готовили 20%-й водный раствор ЖСЗ. Растворы более низких концентраций получали путём последовательных разведений дистиллированной водой 1 : 1. Полученные растворы вводили мышам в желудок зондом в объёме 100 мкл/10 г массы тела. Всего использовали 4 дозы: 250; 500; 1000 и 2000 мг/кг массы тела животного. Краситель вводили дважды с интервалом 24 ч, препараты для цитогенетического анализа готовили через 24 ч после второго введения.

В качестве негативного контроля использовали дистиллированную воду, которую вводили животным перорально двукратно один раз в день в объёме 100 мкл/10 г массы тела. В качестве позитивного контроля мышам внутрибрюшинно однократно вводили циклофосфамид (Эндоксан, Вахтер, Германия, Серия 9D301A) за сутки до эвтаназии в дозе 10 мг/кг в объёме 100 мкл/10 г массы тела.

Частота ПХЭ с МЯ в костном мозге мышей при двукратном введении ЖСЗ

The frequency of micronuclei in polychromatophilic erythrocytes (PCE) in the bone marrow of mice after a double administration of Sunset Yellow

Доза, мг/кг Dose, mg/kg	ПХЭ с МЯ, % Micronuclei in PCE, %		ПХЭ / (ПХЭ + НХЭ), % PCE / (PCE + normochromic erythrocytes (NCE)), %	
	<i>M</i> (95%-й ДИ / CI)	min–max	<i>M</i> (95%-й ДИ / CI)	min–max
0 (контроль / control)	0.83 (0.00 ÷ 1.75)	0.25–2.50	55.87 (50.79 ÷ 60.95)	51.80–64.80
250	1.08 (0.69 ÷ 1.48)	0.75–1.75	57.53 (52.82 ÷ 62.24)	53.00–63.20
500	1.17 (0.77 ÷ 1.56)	0.50–1.50	52.13 (46.99 ÷ 57.28)	46.20–58.00
1000	1.58 (0.74 ÷ 2.42)	0.75–3.00	56.70 (48.29 ÷ 65.11)	46.20–69.80
2000	2.13* (1.03 ÷ 3.22)	1.00–4.00	58.87 (52.35 ÷ 65.38)	50.80–68.20
10 (циклофосфамид / cyclophosphamide)	9.88** (7.61 ÷ 12.14)	7.00–12.50	61.50 (58.86 ÷ 64.14)	58.60–64.40

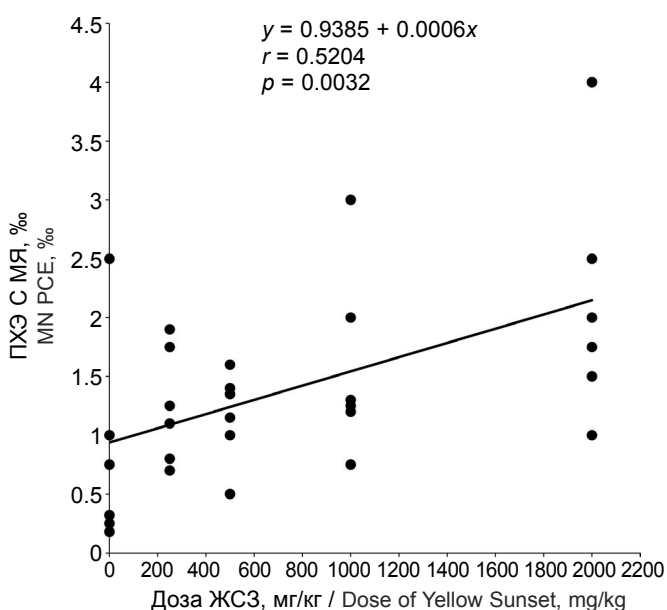
Примечание. * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,001$ при сравнении с параллельным отрицательным контролем (T -критерий).

Note: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,001$ when compared with a parallel negative control (T -test).

Цитогенетические препараты готовили общепринятым способом в соответствии с методическими рекомендациями [15, 17], окрашивали по методу Романовского–Гимза с использованием набора красителей «Лейкоцид 200» (Erba Lachema, Чехия). Перед началом цитогенетического анализа препараты шифровали с помощью генератора случайных чисел.

Анализ препаратов проводили методом световой микроскопии (Olympus BX-41, увеличение 10×100 с масляной иммерсией). Анализировали по 4000 ПХЭ от каждого животного. Учитывали ПХЭ с микроядрами. Долю ПХЭ от суммы ПХЭ и нормохромных эритроцитов ПХЭ/(ПХЭ + НХЭ) определяли при подсчёте 500 эритроцитов от каждого животного.

Статистическую обработку экспериментальных данных проводили путём сравнения опытных групп с группой отрицательного контроля в программе Statistica 10 for Windows (StatSoft Inc., США) с использованием T -критерия для независимых групп данных. Для выявления дозовой зависимости использовали регрессионный анализ. Значимыми считали различия при $p \leq 0,05$.



Зависимость частоты ПХЭ с МЯ в костном мозге мышей от дозы красителя ЖСЗ.

The dependence of the frequency of MN PCE in the bone marrow of mice on the Sunset yellow dose.

Результаты

Внешний вид и поведение экспериментальных животных не отличались от контрольных. Результаты оценки цитогенетической активности ЖСЗ приведены в таблице.

Как видно из таблицы, доля ПХЭ среди всех эритроцитов в опытных группах не отличалась от контрольной. Уровень ПХЭ с МЯ после введения красителя в дозе 2000 мг/кг (2,13 (1,03 ÷ 3,22)) не только статистически значимо превышал таковой у животных параллельного отрицательного контроля, но и выходил за пределы верхнего 95%-го ДИ накопленного отрицательного контроля (1,39–1,90%). Регрессионный анализ выявил прямую ассоциативную связь между частотой образования МЯ и дозой ЖСЗ (см. рисунок). Полученный положительный результат свидетельствует о том, что изученный образец ПК ЖСЗ индуцирует хромосомные повреждения и/или нарушения митотического аппарата в проэритроцитах костного мозга экспериментальных животных.

Обсуждение

Исследования по изучению генотоксичности ЖСЗ *in vivo* немногочисленны. В тесте ДНК-комет острое воздействие красителя (Tokyo Kasei Kogyo Industry Ltd., Япония) в дозе 2000 мг/кг не вызывало у мышей фрагментации ДНК в клетках желудка, кишечника, печени, почек, лёгких, мочевого пузыря, головного и костного мозга [18] через 3 и 24 ч после воздействия. Но в лейкоцитах крови крыс в ответ на пероральное введение ЖСЗ (чистота 90%, Sigma Aldrich, Германия) в дозе 2,5 мг/кг массы тела в течение 30 дней статистически значимо увеличивался момент хвоста комет [19]. При этом отмечались гистопатологические изменения в печени и почках, признаки оксидативного стресса и воспаления.

При применении практически одинаковых малых доз ЖСЗ частота аберраций хромосом в клетках костного мозга мышей не изменялась в одном случае (пятикратное введение до 1,7 мг/кг) [20], но повышалась в костном мозге и в сперматоцитах в другом случае (однократное воздействие до 1,3 мг/кг и введение в течение 3 нед в дозе 0,325 мг/кг, чистота 96%, Kamena Industries, Канада) [21]. В последней работе также достоверно увеличивалась частота сестринских хроматидных обменов в клетках костного мозга через 24 ч после однократного перорального введения в дозах 0,325–1,3 мг/кг массы тела экспериментальных животных. Необходимо отметить, что эта работа вызывает некоторые вопросы. Так, после однократного воздействия ЖСЗ в дозе 0,65 мг/кг частота фрагментов составляла больше половины от эффекта 20 мг/кг ЦФ. При ежедневных введениях ЖСЗ в дозе 0,325 мг/кг наблюдалось накопление нестабильных аберраций хромосом (фрагментов). Самцам крыс

линии Wister ежедневно перорально вводили ЖСЗ в дозе 2 г/кг массы тела в течение 30 и 60 дней [22]. Результаты цитогенетического анализа выявили статистически значимое увеличение хромосомных aberrаций (ХА) в экспериментальных группах по сравнению с контрольной. Здесь также возникают сомнения в надёжности результатов, так как между первым и вторым месяцем заправки достоверно увеличивалась частота разрывов. Вызывает вопрос и необычно высокий уровень колец. Wever J. и соавт. оценивали ЖСЗ 85%-й чистоты (GmbH, ФРГ) на китайских хомячках и трёх линиях мышей после однократного орального воздействия в дозах 0,5–2,0–3,0 г/кг массы тела [23]. Цитотоксичность в дозе 3,0 г/кг привела к снижению митотического индекса и плохому качеству анализируемых препаратов. Результаты выявили небольшое достоверное увеличение доли aberrантных метафаз только у хомячков при дозах 1,5 и 2,0 г/кг без зависимости от дозы. Так как слабый положительный эффект в тесте на индукцию ХА был зарегистрирован только у одного вида животных и не подтвердился в эксперименте на мышях, авторы пришли к выводу, что не следует ожидать генотоксической опасности от приёма внутрь данного ПК. Хотя кажется странным отсутствие повышения уровня МЯ в костном мозге хомячков после введения ЖСЗ в том же режиме, мы всё же полагаем, что не стоит пренебрегать полученными данными. Вполне возможно, что китайские хомячки по сравнению с другими видами более чувствительны к азокрасителям. Так, в тесте Эймса микросомальная фракция S9 из печени хомячков была эффективнее S9 из активированной печени крыс в индукции мутаций азокрасителем Красный очаровательный [24]. Другим примером видовой чувствительности может быть эксперимент, где в Комет-тесте чувствительной к воздействию трёх азокрасителей (Амарант, Красный очаровательный и Понсо) была ткань толстой кишки мышей, но не крыс [25].

В МЯ-тесте на клетках костного мозга мышей также были получены как положительный (при низкой концентрации ЖСЗ) [26], так и отрицательный [27, 28] ответы. В последней работе [28] не было значительного увеличения частоты МЯ в ПХЭ и у самцов крыс через 24 и 48 ч после однократного воздействия красителя (Radian Corporation, Техас) в дозах до 2000 мг/кг. Отрицательный ответ на фоне увеличения митотического индекса был получен в МЯ-тесте на энтероцитах кишки при двукратном введении *per os* ЖСЗ (чистота 90%, Sigma-Aldrich, Франция) в дозах 200 и 1000 мг/кг массы тела животного [29].

Результаты большинства перечисленных публикаций в соответствии с критериями [15, 30] можно расценить как неопределённые из-за наличия признаков воспалительных процессов, малых протестированных доз или несоблюдения других требований современных протоколов. В нашем экс-

перименте зарегистрирован слабый положительный эффект ЖСЗ в остром эксперименте на клетках костного мозга мышей в МЯ-тесте, удовлетворяющий критериям позитивного ответа. Настоящее исследование ограничено рамками методологии применяемого теста и не позволяет определить механизм действия исследуемого ПК (анеугенное или кластогенное воздействие).

Безопасность применения ПК в нашей стране регламентирована техническими регламентами Таможенного союза и ГОСТ Р 55579–2013 [2, 31–33]. Оценка соответствия ПК для ввоза в страну и выпуска в обращение на отечественном рынке проводится в форме декларирования соответствия требованиям, указанным в данных регламентирующих документах. В ГОСТ Р 55579–2013 [33], разработанном с учётом требований европейских стандартов в части спецификаций, описана процедура приёма новых партий красителей, где предусмотрены периодические испытания по показателям, обеспечивающим безопасность, в том числе определение содержания токсичных элементов (четыре тяжёлых металла), массовой доли экстрагируемых эфиром веществ и несублимированных первичных ароматических аминов. Однако химический анализ лишь свободных веществ может приводить к недооценке присутствующих загрязнителей. Так, количество связанного бензидина в красителях порой превышает количество свободного [34]. В данном контексте показательны эксперименты по испытанию в тесте Эймса образцов ПК E132 (Индиго) от разных компаний-производителей [35] и разных партий ПК E129 (Красный очаровательный) от одного производителя [24]. Выявленные различия в величине мутагенного эффекта авторы связали с наличием разных примесей в коммерческих продуктах. Таким образом, даже систематический анализ ПК на соответствие стандартам существующих регламентов может не обеспечить генетической безопасности красителя. В связи с этим представляется целесообразным проводить экспериментальную оценку каждой партии синтетических ПК, в том числе на генотоксичность, возможно, в качестве этапа подходящей стратегии оценки безопасности, как это предложено для пестицидов [36].

Заключение

В настоящей работе пищевой краситель Жёлтый «солнечный закат» (E110) производства Roha Dychem PVT. LTD (Индия) чистотой 90,46% изучен, согласно рекомендациям [15, 17], в МЯ-тесте *in vivo* в условиях двукратного введения в дозах 250; 500; 1000 и 2000 мг/кг веса животного (гибриды F1 самцы CBA × C57Bl6/j). Изученный образец ЖСЗ проявил слабую мутагенную активность в клетках костного мозга мышей.

Литература

(п.п. 10–16, 18, 19, 21–30, 34, 35 см. References)

1. Ананьева Е.А. Сорбционно-спектрофотометрическое определение анионных пищевых красителей. *Вестник магистратуры*. 2019; (9–1): 17–20.
2. ТР ТС 029/2012. *Требования безопасности пищевых добавок, ароматизаторов и технологических вспомогательных средств*. Евразийская экономическая комиссия; 2012. Доступно: https://www.eurasiancommission.org/ru/act/techreg/deptexreg/tr/Documents/P_58.pdf
3. Требования к инструкции по медицинскому применению лекарственного препарата и общей характеристике лекарственного препарата для медицинского применения. Совет Евразийской экономической комиссии; 2016. Available at: <https://docs.cntd.ru/document/456026108>
4. Рудометова Н.В. Безопасность пищевых продуктов: контроль применения синтетических красителей. *Пищевая промышленность*. 2010; (12): 64–5.
5. Бессонов В.В., Передеряев О.И., Богачук М.Н., Малинкин А.Д. Пищевые красители в современной индустрии пищи: безопасность и контроль. *Пищевая промышленность*. 2012; (12): 20–4.
6. Онучак Л.А., Пивоварова Н.А., Зотова А.В., Макарова Н.В. Анализ синтетических красителей в безалкогольных напитках и соках с использованием нового метода микроколоночной жидкостно-адсорбционной хроматографии. *Техника и технология пищевых производств*. 2012; (2): 144А–8.
7. Онучак Л.А., Пивоварова Н.А., Зотова А.В., Макарова Н.В. Микроколоночная жидкостно-адсорбционная хроматография для анализа синтетических красителей в безалкогольных напитках и соках. *Пищевая промышленность*. 2012; (1): 56–7.
8. Брынских Г.Т., Михеева Л.А., Терехина Н.В., Брынских В.Э. Качественное и количественное определение содержания пищевых красителей в газированных напитках. *Ульяновский медико-биологический журнал*. 2014; (4): 74–7.
9. Песенкова Я.А., Рахимов Р.Р. Экспресс метод определения синтетических пищевых красителей в продуктах питания. В кн.: *Химия и химическая технология в XXI веке: Материалы XIX Международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых имени профессора Л.П. Кулёва*. Томск; 2018: 586–7.
10. Р 1.2.3156–13. Оценка токсичности и опасности химических веществ и их смесей для здоровья человека. М.; 2014.
11. Дурнев А.Д., Орещенко А.В., Кулакова А.В., Берестень Н.Ф. Анализ цитологической активности пищевых красителей. *Вопросы медицинской химии*. 1995; 41(5): 50–3.

Original article

31. ТР ТС 021/2011. О безопасности пищевой продукции; 2011. Доступно: <https://www.eurasiancommission.org/ru/act/tehnreg/deptexreg/tr/Documents/TR%20TS%20PishevayaProd.pdf>
32. ТР ТС 022/2011. Пищевая продукция в части ее маркировки; 2011. Доступно: <https://www.tsouz.ru/db/techreglam/documents/trtspishevkamarkirovka.pdf>

33. ГОСТ Р 55579–2013. Добавки пищевые. Азокрасители. Технические условия. М.: 2014.
36. Илюшина Н.А. Оценка эквивалентности технических продуктов пестицидов-аналогов оригинальным действующим веществам по критерию «мутagenность». *Экологическая генетика*. 2019; 17(2): 101–12. <https://doi.org/10.17816/ecogen172101-112>

References

1. Ananeva E.A. Sorption-spectrophotometric determination of anionic food dyes. *Vestnik magistratury*. 2019; (9–1): 17–20. (in Russian)
2. TR CU 029/2012. Safety requirements for food additives, flavorings and technological aids. Eurasian Economic Commission; 2012. Available at: https://www.eurasiancommission.org/ru/act/tehnreg/deptexreg/tr/Documents/P_58.pdf (in Russian)
3. Requirements for the instructions for the medical use of the medicinal product and the general characteristics of the medicinal product for medical use. Council of the Eurasian Economic Commission; 2016. Available at: <https://docs.cntd.ru/document/456026108> (in Russian)
4. Rudometova N.V. Food safety: control of the use of synthetic dyes. *Pishchevaya promyshlennost'*. 2010; (12): 64–5. (in Russian)
5. Bessonov V.V., Perederyaev O.I., Bogachuk M.N., Malinkin A.D. Food colors in modern food industry – security and control. *Pishchevaya promyshlennost'*. 2012; (12): 20–4. (in Russian)
6. Onuchak L.A., Pivovarova N.A., Zotova A.V., Makarova N.V. Analysis of synthetic dyes in soft drinks and juices with the use of new method microcolumn liquid-adsorption chromatography. *Tekhnika i tekhnologiya pishchevykh proizvodstv*. 2012; (2): 144A–8. (in Russian)
7. Onuchak L.A., Pivovarova N.A., Zotova A.V., Makarova N.V. Microcolumn liquid-adsorption chromatography for the analysis colorants in soft drinks and juices. *Pishchevaya promyshlennost'*. 2012; (1): 56–7. (in Russian)
8. Brynskikh G.T., Mikheeva L.A., Terekhina N.V., Brynskikh V.E. Qualitative and quantitative determination of food dyes in carbonated drinks. *Ul'yanovskiy mediko-biologicheskii zhurnal*. 2014; (4): 74–7. (in Russian)
9. Pesenkova Ya.A., Rakhimov R.R. Express method for the determination of synthetic food dyes in food. In: *Chemistry and Chemical Technology in the XXI century: Materials of the XIX International Scientific and Practical Conference of Students and Young Scientists named after Professor L.P. Kulev [Khimiya i khimicheskaya tekhnologiya v XXI veke: Materialy XIX Mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii studentov i molodykh uchenykh imeni professora L.P. Kuleva]*. Tomsk; 2018: 586–7. (in Russian)
10. Moradi-Khatoonabadi Z., Amirpour M., Akbari Azam M. Synthetic food colours in saffron solutions, saffron rice and saffron chicken from restaurants in Tehran, Iran. *Food Addit. Contam. Part B Surveill*. 2015; 8(1): 12–7. <https://doi.org/10.1080/19393210.2014.945195>
11. Asadnejad S., Nabizadeh R., Nazarinia A., Jahed G.R., Alimohammadi M. Data on prevalence of additive colors in local food and beverage products, Tehran, Iran. *Data Brief*. 2018; 19: 2104–8. <https://doi.org/10.1016/j.dib.2018.07.001>
12. Atri R., Singh A., Mathur N., Verma A. Utilization of microbial bioassays for screening the possible toxicity in regularly used food dyes. *J. Chem. Bio. Phy. Sci. Sec. B*. 2014; 4(2): 1248–57.
13. EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food (ANS). Scientific opinion on the re-evaluation of Sunset Yellow FCF (E 110) as a food additive on request from the European Commission. *EFSA J*. 2009; 7(11): 1330. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2009.1330>
14. EFSA Panel Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food (ANS). Scientific opinion on the reconsideration of the temporary ADI and refined exposure assessment for Sunset Yellow FCF (E 110). *EFSA J*. 2014; 12(7): 3765. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2014.3765>
15. OECD. Test No. 474: Mammalian Erythrocyte Micronucleus Test. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4. Paris: OECD Publishing; 2016. <https://doi.org/10.1787/9789264264762-en>
16. Commission Regulation (EU) No. 231/2012 laying down specifications for food additives listed in Annexes II and III to Regulation (EC) No. 1333/2008 of the European Parliament and of the Council. Available at: https://www.fsai.ie/uploadedFiles/Reg231_2012.pdf
17. R 1.2.3156–13. Assessment of toxicity and danger of chemicals and their mixtures for human health. Moscow; 2014. (in Russian)
18. Sasaki Y.F., Kawaguchi S., Kamaya A., Ohshita M., Kabasawa K., Iwama K., et al. The comet assay with 8 mouse organs: results with 39 currently used food additives. *Mutat. Res*. 2002; 519(1-2): 103–19. [https://doi.org/10.1016/s1383-5718\(02\)00128-6](https://doi.org/10.1016/s1383-5718(02)00128-6)
19. Khayyat L.I., Essawy A.E., Sorour J.M., Soffar A. Sunset yellow and Allura red modulate *Bcl2* and *COX2* expression levels and confer oxidative stress-mediated renal and hepatic toxicity in male rats. *PeerJ*. 2018; 6: e5689. <https://doi.org/10.7717/peerj.5689>
20. Durnev A.D., Oreshchenko A.V., Kulakova A.V., Beresten N.F. Analysis of the cytogenetic activity of food dyes. *Voprosy meditsinskoy khimii*. 1995; 41(5): 50–3. (in Russian)
21. Sayed H.M., Fouad D., Ataya F.S., Hassan N.H., Fahmy M.A. The modifying effect of selenium and vitamins A, C, and E on the genotoxicity induced by sunset yellow in male mice. *Mutat. Res*. 2012; 744(2): 145–53. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2012.02.003>
22. Al-Kaisei B.I., Humadi A., Humadai T.J. Toxicopathological and mutagenic of food dyes sunset yellow (e-110) on Wister male rats. *Biochem. Cell. Arch*. 2019; 19(2): 3421–6. <https://doi.org/10.35124/bca.2019.19.2.3421>
23. Wever J., Munzner R., Renner H.W. Testing of sunset yellow and orange II for genotoxicity in different laboratory animal species. *Environ. Mol. Mutagen*. 1989; 13(3): 271–6. <https://doi.org/10.1002/em.2850130311>
24. Prival M.J., Davis V.M., Peiperl M.D., Bell S.J. Evaluation of azo food dyes for mutagenicity by method using Salmonella typhimurium. *Mut. Res*. 1988; 206(2): 247–59. [https://doi.org/10.1016/0165-1218\(88\)90168-1](https://doi.org/10.1016/0165-1218(88)90168-1)
25. Shimada C., Kano K., Sasaki Y.F., Sato I., Tsudua S. Differential colon DNA damage induced by azo food additives between rats and mice. *J. Toxicol. Sci*. 2010; 35(4): 547–54. <https://doi.org/10.2131/jts.35.547>
26. Sankaranarayanan N., Murthy M.S. Testing of some permitted food colors for the induction of gene conversion in diploid yeast. *Mutat. Res*. 1979; 67(4): 309–14. [https://doi.org/10.1016/0165-1218\(79\)90026-0](https://doi.org/10.1016/0165-1218(79)90026-0)
27. Yamada M., Honma M. Summarized data of genotoxicity tests for designated food additives in Japan. *Genes Environ*. 2018; 40: 27. <https://doi.org/10.1186/s41021-018-0115-2>
28. Westmoreland C., Gatehouse D.G. The differential clastogenicity of Solvent Yellow 14 and FD&C Yellow No. 6 in vivo in the rodent micronucleus test (observations on species and tissue specificity). *Carcinogenesis*. 1991; 12(8): 1403–7. <https://doi.org/10.1093/carcin/12.8.1403>
29. Poul M., Jarry G., Elhkim M.O., Poul J.M. Lack of genotoxic effect of food dyes amaranth, sunset yellow and tartrazine and their metabolites in the gut micro assay in mice. *Food Chem. Toxicol*. 2009; 47(2): 443–8. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2008.11.034>
30. Hardy A., Benford D., Halldorsson T., Jeger M., Knutsen H.K., More S., et al. EFSA Scientific Committee. Clarification of some aspects related to genotoxicity assessment. *EFSA J*. 2017; 15(12): 5113. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2017.5113>
31. ТР CU 021/2011. About Food safety; 2011. Available at: <https://www.eurasiancommission.org/ru/act/tehnreg/deptexreg/tr/Documents/TR%20TS%20PishevayaProd.pdf> (in Russian)
32. ТР CU 022/2011. Food products in terms of their labeling; 2011. Available at: <https://www.tsouz.ru/db/techreglam/documents/trtspishevkamarkirovka.pdf> (in Russian)
33. ГОСТ Р 55579–2013. Food additives. Azo dyes. Technical conditions. Moscow; 2014. (in Russian)
34. Kobylewski S., Jacobson M.F. Toxicology of food dyes. *Int. J. Occup. Environ. Health*. 2012; 18(3): 220–46. <https://doi.org/10.1179/1077352512z.00000000034>
35. Jongen W.M., Aiink G.M. Enzyme-mediated mutagenicity in Salmonella typhimurium of contaminants of synthetic indigo products. *Food Chem. Toxicol*. 1982; 20(6): 917–20. [https://doi.org/10.1016/s0015-6264\(82\)80228-9](https://doi.org/10.1016/s0015-6264(82)80228-9)
36. Ilyushina N.A. Assessment of the equivalence of technical materials of analogous pesticides to original active substances on the basis of “mutagenicity” criterion. *Ekologicheskaya genetika*. 2019; 17(2): 101–12. <https://doi.org/10.17816/ecogen172101-112> (in Russian)