

## ВИЯВЛЕННЯ МОЖЛИВОЇ ГЕНОТОКСИЧНОЇ НЕБЕЗПЕКИ ЗА ВИКОРИСТАННЯ СИНТЕТИЧНОГО ХАРЧОВОГО АРОМАТИЗАТОРА «ВИШНЯ»

Л. Боднар, І. Типусяк, С. Горбулінська

Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна  
e-mail: bodnarlidia@ukr.net

Складники ароматизаторів зазвичай представлені ксенобіотиками – це не власний живим організм хімічні сполуки, які з натуральними продуктами не надходять в організм людини. Будь-які ксенобіотики, потрапляючи в організм, можуть включатися в обмін речовин, впливати на генетичний матеріал клітини і тим самим призводити до більш або менш важких наслідків. Дана робота присвячена виявленню можливої мутагенної активності синтетичного харчового ароматизатора «ВИШНЯ AS00640» з використанням про- та сукаріотичних тест-систем. Індукування хромосомних аберацій вивчали на двох тест-системах – *Allium cepa* та *Mus musculus*, використовуючи рекомендовану виробником добову дозу, а також ще дві дози – збільшену та зменшену в 10 разів. У тесті на меристемних клітинах корінців цибулі за різних концентрацій рівень хромосомних аберацій за дії ароматизатора перевищував значення контролю. Серед аномалій найчастіше траплялися подвійні фрагменти, які є результатом делецій і утворення одинарних та подвійних мостів (дицентриків) як наслідок процесів транслокацій. На препаратах клітин кісткового мозку мишей було виявлено анеуплоїдні клітини, а також модифіковані набори хромосом. Результати цього тесту корелюють із результатами, отриманими нами в анателофазному тесті на *A. cepa*, у всіх випадках спостерігали дозозалежний ефект. Тест на індукування домінуючих летальних мутацій у *Drosophila melanogaster* показав, що хімічні складові ароматизатора «Вишня AS00640» можуть сприяти появі різноманітних змін у генах і хромосомах, які відповідають за нормальний перебіг процесів сперматогенезу.

Оскільки складники ароматизаторів зазвичай представлені ксенобіотиками, які в організмі вищих сукаріот можуть підлягати частковій або повній біотрансформації, що представлена цілим комплексом як ферментативних, так і спонтанних перетворень, нами проведено дослідження з використанням тесту Еймса з і без метаболічної активації на *Salmonella typhimurium*. У тесті Еймса без метаболічної активації виявили індукування генних мутацій порівняно з контролем за всіх досліджуваних доз лише за механізмом зсуву рамки зчитування. Виходячи з результатів досліджень із додаванням мікосомальної фракції гомогенату печінки щурів, мутагенну активність з використанням штаму TA-98 *S. typhimurium* не було виявлено. Це свідчить про можливість утворення у процесах біотрансформації менш активних метаболітів порівняно з вихідними інгредієнтами ароматизатора, які тим самим сприяють зниженню ризику генотоксичних ефектів нативного продукту.

*Ключові слова:* ароматизатори продуктів харчування, генні мутації, хромосомні аберації, генотоксичність, біотрансформація ксенобіотиків

У харчовій промисловості дедалі ширше застосовують синтетичні ароматизатори. Це допоміжні полікомпонентні речовини у виробництві фармацевтичних препаратів і продуктів харчування, які використовують у технологічному процесі для поліпшення запаху й смаку готової продукції [5, 15]. До складу ароматизаторів можуть входити, окрім

хімічних сполук або їхніх сумішей, виділених із натуральної сировини, і такі хімічно синтезовані небезпечні речовини, як галова кислота, пропіленгліколь, Д-карвон, бензойна кислота, натрій нітрит, оксифенілон, цис-3-гексеніл та інші [7, 8, 14]. Більшість із цих речовин мають токсичну та мутагенну активність, яка встановлена на різних тест-системах [1, 2, 8, 10, 12, 16]. Фірми-виробники переважно не розголошують повний перелік інгредієнтів ароматизаторів, а якщо його перелічують, то не вказують кількість того чи іншого складника, наприклад, в 1 г ароматизатора. Окрім того, мутагенні й токсичні властивості компонентів ароматизаторів не завжди характеризуються простою сумою мутагенних властивостей кожного з них. Тому важливим підходом до розуміння мутагенного навантаження на геном людини, яке може нести той чи інший ароматизатор, є вивчення саме сумарної мутагенної активності його за різних концентрацій. В Україні використання харчових добавок можливе тільки після їхньої реєстрації центральним органом виконавчої влади у сфері охорони здоров'я, проте висновок про генотоксичну безпеку харчових добавок не є обов'язковим [6, 17]. Останнім часом небезпечним генотоксикантам приділяється все більше уваги, особливо біотестуванню для визначення генотоксичних властивостей їх на різних тест-об'єктах, яке допомагає з'ясувати мутагенну і/або цитотоксичну, і/або канцерогенну дію досліджуваних зразків. Одним із доказових показників мутаційного процесу на клітинному рівні є виявлення генних мутацій і хромосомних аберацій. Підвищений рівень останніх розглядається як хромосомна нестабільність, котра в подальшому може спричинити розвиток злоякісних новоутворень [3, 4, 9, 18].

Метою даної роботи було дослідити можливу мутагенну активність ароматизатора «Вишня AS00640» фірми Etol і деяких його хімічних компонентів із використанням про-й еукаріотичних тест-систем.

#### Матеріали та методи

У роботі досліджували генотоксичну активність синтетичного харчового ароматизатора «Вишня AS00640» фірми Etol. До компонентного складу даного ароматизатора входять мальтол, який є потенційно шкідливим для здоров'я людини і в багатьох країнах заборонений; бензилальдегід, який легко реагує з нуклеофільними реагентами, вступаючи в різноманітні реакції; пропіленгліколь, який добувають переробкою нафтопродуктів, може викликати алергічні реакції, подразнення, порушення роботи печінки та нирок, у великих дозах впливає на нервову систему, а також може стимулювати виникнення ракових пухлин, і молочна кислота [1, 23]. Також можливі в незначних кількостях домішки – аміачний нітроген, діоксид сульфуру, фосфати, важкі метали, які з'являються в готовому продукті внаслідок технологічних процесів виробництва. З літератури відомо, що аміачний нітроген за ступенем впливу на людину належить до 4-го класу небезпеки, може впливати на репродуктивну функцію, викликаючи природжені вади розвитку, а важкі метали є вираженими мутагенами для еукаріотичних клітин [13, 19]. В експериментах використовували рекомендовану виробником добову дозу ароматизатора – 0,52 г/л, а також ще дві дози – збільшену в 10 разів (5,2 г/л) і зменшену в 10 разів (0,052 г/л).

Дослідження проводили на трьох еукаріотичних тест-об'єктах: *Mus musculus*, *Drosophila melanogaster*, *Allium cepa* та на прокаріотичному об'єкті *Salmonella typhimurium*. Для виявлення генотоксичного й цитотоксичного впливу розчинів ароматизатора «Вишня AS00640» на геном цибулі *Allium cepa* використовували метод анателофазного аналізу хромосомних аберацій у клітинах кореневої меристеми насіння, яке розвивалося на досліджуваних зразках. У цьому тесті можна фіксувати хромосомні мутації типу делецій і транслокацій, а також порушення веретена поділу за частотою відставання хромосом, багатополісності й асиметричних мітозів. Окрім того, одночасно можна фіксувати

появу мікроядер, які утворюються з ацентричних фрагментів хромосом і об'єднуються в хромосомні агрегати [11].

*Drosophila melanogaster* лінії Oregon використовували для виявлення індукування домінантних летальних мутацій (ДЛМ) у процесі сперматогенезу. Згодовування зразками різних концентрацій проводили на личинковій стадії, вносячи їх у кількості 2 мл на поверхню готового поживного середовища. Домінантні летальні мутації, які виникають за дії хімічних сполук у клітинах процесу сперматогенезу, можуть призводити до летальності зиготи. Такі ефекти відбуваються, наприклад, за дефіциту хромосомного матеріалу в геномі або за різноманітних змін у генах і хромосомах, які призводять до блокування процесів реплікації. Цим методом фіксують пізні ембріональні леталі (яйця жовто-коричневого кольору) та ранні ембріональні леталі (яйця білого кольору). Також за дії на *D. melanogaster* хімічних чинників підвищується ймовірність появи незапліднених яєць унаслідок фізіологічного чи генетичного пошкодження сперматозоїдів або зниження статевої активності самців [9].

З метою дослідження впливу ароматизатора на геном соматичних клітин ссавців використовували метод метафазного аналізу аберацій хромосом у клітинах кісткового мозку мишей *Mus musculus* за допомогою рутинного забарвлення розчином барвника Гімза. Метод вивчення хромосом на стадії метафази є найбільш інформативним, оскільки дає змогу дослідити широкий спектр структурних і кількісних змін хромосом. Індукування хромосомних аберацій у клітинах кісткового мозку *Mus musculus* досліджували на молодих білих статевозрілих самцях, зразок вводили перорально одноразово у вигляді водного розчину по 0,4 мл в дозах 0,52 та 5,2 мг/кг за допомогою металевого зонду. Препарати метафазних хромосом готували за методом Н.У. Evans [20].

Для виявлення можливого індукування генних мутацій за дії ароматизатора «Вишня AS00640» проведено дослідження тестом Еймса на плазмідних штаммах TA100 та TA98 *Salmonella typhimurium* [22]. Вони є ауксотрофами за гістидином, а за дії мутагенних чинників можуть ревертувати до прототрофності. Штам *S. typhimurium* TA100 несе мутацію у гістидиновому опероні (місенс мутація his G46) – це дає можливість зафіксувати точкові мутації типу заміни пар основ; штам TA98 (місенс мутація hisD3052) реєструє мутації типу зсуву рамки зчитування. Експеримент проводили з і без додавання мікросомальної активуючої суміші (МАС), яку готували з печінки самців щурів лінії Вістар. Мікросомальні ферменти індукували фенобарбіталом. Використання гомогенату печінки щурів дає можливість отримати більш наближені результати біотрансформації ксенобіотиків, яка може відбуватися в організмі вищих еукаріот [21]. Як контроль замість досліджуваних зразків у шар напіврідкого агару вносили 0,2 мл дистильованої води – негативний контроль. Як позитивний контроль для штаму TA98 використовували бензидин (200 мкг на чашку), для штаму TA100 у варіанті без метаболічної активації застосовували N-метил-N-нітро – N-нітрозогуанідин (200 мкг на чашку) й у варіанті з метаболічною активацією – азид натрію (200 мкг на чашку). Мутагенний ефект вважали встановленим у тому випадку, коли співвідношення кількості колоній-ревертантів у досліді й контролі становило 2,5 і більше, причому мутагенний ефект характеризується як слабкий за перевищення кількості дослідних колоній над контрольними у 2,5–10 разів (1 бал), як середній – у 10–100 разів (2 бали), як сильний – у більш ніж 100 разів (3 бали) [21]. Статистичну обробку результатів проводили з використанням критерію Стьюдента t.

#### Результати і їхнє обговорення

Проведений аналіз мутагенної активності ароматизатора «Вишня AS00640» у різних концентраціях за допомогою анателофазної тест-системи на клітинах кореневої ме-

ристеми *A. cepa* та проаналізовані зміни в проліферації клітин. Виявлено збільшення мітотичного індексу порівняно з контролем. Це може відбуватися внаслідок збільшення кількості клітин, що вступають у мітоз, або ж за рахунок затримки поділу клітин. Збільшення кількості профаз може відбуватись унаслідок подовження в часі процесів у профазі або пришвидшення процесів синтезу в інтерфазі та вступу клітин в процеси мітозу. Підвищення мітотичного індексу спостерігали як за дослідження добової концентрації ароматизатора, так і за концентрації, збільшеної у 10 разів. Таким чином, за дії харчового ароматизатора «Вишня AS00640» виявлено стимулюючий вплив на проліферативну активність клітин кореневої меристеми *A. cepa*, який не виявляв чіткого дозозалежного характеру. Аналіз результатів анателофазного тесту на індукування хромосомних мутацій зразками цього ароматизатора показав різні типи порушень у правильному розходженні хромосом до полюсів. Як за добової концентрації, так і за концентрації, збільшеної у 10 разів, рівень хромосомних аберацій за дії ароматизатора перевищував значення контролю. За добової концентрації 0,52 г/л показники індукування хромосомних мутацій становили 8,2 %, у контролі – 2,8 %. За концентрації 5,2 г/л показники хромосомних мутацій були ще вищими і становили 12,8 %, що у 4,5 разу перевищували контрольні показники (табл. 1). Серед аномалій найчастіше виявляли подвійні фрагменти, які виникають у результаті хромосомних делецій, та утворення одинарних і подвійних мостів (дицентриків) як наслідок процесів транслокацій. Частота виникнення мутацій за дії молочної кислоти становила 2,5 %, що відповідає рівню контролю. Пропіленгліколь викликав мутації з частотою 6,7 %, що більш ніж у 2 рази перевищує показники контролю (табл. 1). Серед аномалій найчастіше виявляли поодинокі фрагменти хромосом.

Таблиця 1

Рівень хромосомних аберацій у меристемних клітинах *A. cepa*  
за дії харчового ароматизатора «Вишня AS00640»

Зразок	Доза, г/л	Всього анателофаз	Кількість аномальних анателофаз					Частота виникнення мутацій, %	t**	
			Абсол. к-сть	I*	II	[	[ ]			Ин.
Контроль		71	2	2	–	–	–	–	2,8±1,9	–
Ароматизатор	0,52	49	4	–	2	–	1	1	8,2±3,9	1,26
Ароматизатор	5,2	47	6	1	2	2	1	–	12,8±4,9	2,09
Пропіленгліколь	3,6	90	6	3	1	2	–	–	6,7±2,6	1,13
Молочна кислота	1,0	119	3	2	1	–	–	–	2,5±1,4	0,13

**Примітка:** \*I – одинарний фрагмент; II – подвійний фрагмент; [ – одинарний (хроматидний) міст; [ ] – подвійний (хромосомний) міст. \*\* – рівень достовірності  $p \geq 0,95$

Частоту домінуючих летальних мутацій вивчали на *D. melanogaster*, вносячи зразки ароматизатора «Вишня AS00640» у середовище та згодуючи личинок, яких у подальшому на стадії імаго (лише самців) використовували в системах схрещування з необробленими самками. Таким підходом можна з'ясувати можливість індукування домінуючих летальних мутацій, у тому числі й тих, які задіяні в процесах сперматогенезу. Показники рівня індукції летальних мутацій у дослідженні всіх концентрацій розчинів ароматизатора перевищували показники контролю. Серед модифікованих яєць частіше виявляли незапліднені яйця та реєстрували появу яєць із ранніми летелями. Частота ДЛМ у дослідженні зразка добової дози становила 5,86 %, що більш ніж у 10 разів перевищувало показники контролю, а за концентрації 5,2 г/л вона була ще вищою і становила 6,19 % (табл. 2). Отже, виходячи з отриманих результатів, можна припустити, що хімічні складники ароматизатора «Вишня AS00640» можуть сприяти появі різноманітних змін у генах і хромосомах,

наприклад, викликати дефіцит хромосомного матеріалу в геномі або блокувати процеси реплікації, пригнічуючи нормальний перебіг процесів сперматогенезу.

Таблиця 2

Рівень індукції домінантних летальних мутацій у *Drosophila melanogaster* за дії харчового ароматизатора «Вишня AS00640»

Зразок	К-сть відкл. яєць	К-сть незапл. яєць	К-сть яєць з ранніми ДЛМ	К-сть яєць з пізніми ДЛМ	Частота ДЛМ, %	Коефіцієнт Стьюдента, t*
5,2 г/л	904	45	43	13	6,19±0,64	2,95
0,52 г/л	917	39	44	9	5,86±0,92	2,44
Контроль	940	12	5	–	0,55±0,08	–

**Примітка:** \* – рівень достовірності  $p \geq 0,95$

Для з'ясування впливу ароматизатора «Вишня AS00640» на генетичний матеріал вищих сукаріот проведено аналіз здатності розчинів ароматизатора у різних концентраціях індукувати появу хромосомних аберацій у клітинах кісткового мозку *M. musculus*. Виявлено різні типи порушень у правильному розходженні хромосом, а також зміну числа хромосом і наборів хромосом. Відсоток аномальних метафаз за дії ароматизатора добової дози становив 3,6 %, що більш ніж у 2 рази перевищував показники контролю. За дії зразка концентрацією 5,2 г/л середня частота метафаз із абераціями становила 6,2 % (табл. 3). На препаратах було виявлено анеуплоїдні клітини із загальним числом хромосом 38 або 39, а також модифіковані набори хромосом, у яких число хромосом становило 20 або 60, за норми диплоїдного набору 40 хромосом. Причиною цього можуть бути порушення проходження нормального мітозу, нерівномірний розподіл генетичного матеріалу, каріогенез без цитокінезу, порушення формування веретена поділу та ін. Результати цього тесту корелюють із результатами, отриманими нами в анателофазному тесті на *A. cerea*.

Таблиця 3

Рівні хромосомних аберацій у клітинах кісткового мозку *Mus musculus* після згодовування мишам ароматизатора «Вишня AS00640»

Зразок	Загальна к-сть метафаз	К-сть аномальних метафаз	Середня частота метафаз із абераціями хромосом (M±m), %	Коефіцієнт Стьюдента, t*
5,2 г/л	276	17	6,2±2,9	0,6
0,52 г/л	249	9	3,6±2,2	0,5
Контроль	225	3	1,3±0,13	–

**Примітка:** \* – рівень достовірності –  $P \leq 0,001$

Індукування генних мутацій за дії ароматизатора «Вишня AS00640» досліджували в тесті Еймса на *S. typhimurium* на зразках допустимої добової дози, а також іще двох доз, збільшених і зменшених у десять разів. З використанням штаму TA-100 нами не виявлено індукування генних мутацій за механізмом заміни пар основ за жодної концентрації та модифікації експериментів, рівень реверсій коливався у межах 25–40 колоній за спонтанного мутаційного рівня 44 (табл. 4). Проведені експерименти на штамі TA98 показали, що зразки різної концентрації ароматизатора «Вишня AS00640» здатні індукувати появу мутацій типу зсуву рамки зчитування, але тільки в експериментах без додавання мікросомальної фракції. Кількість колоній ревертантів коливалась у межах 80–90 за негативного контролю 27. З одночасним додаванням у верхній напіврідкий агар зразків ароматизатора з мікросомальною фракцією гомогенату печінки шурів мутагенної активності не виявлено, що свідчить про можливість утворення у процесі біотрансформації менш активних метаболітів порівняно з вихідними інгредієнтами ароматизатора. За внесення мікросомальної фракції кількість колоній коливалась у межах 40–60 при негативному контролі 40 (табл. 5). Отже, виходячи з одержаних результатів, можна припустити, що внаслідок біотрансформа-

ції хімічних складових ароматизатора «Вишня AS00640» в організмі еукаріот можуть утворюватися сполуки, які не здатні індукувати генні мутації й тим самим сприяти зниженню ризику генотоксичних ефектів ароматизатора.

Таблиця 4

Індукування генних мутацій за дії ароматизатора «Вишня AS00640»  
на штамі TA100 *Salmonella thyphimurium*

Зразки	Доза, г/кг	Без МАС			З додаванням МАС		
		Кількість колоній His <sup>+</sup> ревертантів	ХдХк	Мутагенність, бали	Кількість колоній His <sup>+</sup> ревертантів	ХдХк	Мутагенність, бали
Ароматизатор	5,2	25	0,57	–	77	1,51	–
	0,52	37	0,84	–	39	0,76	–
	0,052	38	0,86	–	83	1,63	–
Негативний контроль		44			51		
Позитивний контроль	Азид натрію Нітрозогуанідин	268	6,09	1	368	8,36	1

Таблиця 5

Індукування генних мутацій за дії ароматизатора «Вишня AS00640»  
на штамі TA98 *Salmonella thyphimurium*

Зразки	Доза, г/кг	Без МАС			З додаванням МАС		
		Кількість колоній His <sup>+</sup> ревертантів	ХдХк	Мутагенність, бали	Кількість колоній His <sup>+</sup> ревертантів	ХдХк	Мутагенність, бали
Ароматизатор «Вишня»	5,2	74	2,74	1	36	0,91	–
	0,52	92	3,41	1	46	1,90	–
	0,052	86	3,19	1	60	1,49	–
Негативний контроль		27			40		
Позитивний контроль	Бензидин	240	8,89	1	298	7,45	1

Таким чином, виходячи з результатів досліджень, складники ароматизатора «Вишня AS00640» мають генетичну активність, здатні індукувати різні типи порушень у генетичному матеріалі як прокаріот, так і еукаріот навіть за рекомендованої виробником дози. Проте показано, що проходження через систему мікосомальних ферментів у процесах біотрансформації у вищих організмів за дії цього ароматизатора можуть виникати менш реактивні сполуки, які не здатні стимулювати появу генетичного вантажу у вигляді мутацій, тим самим сприяючи зниженню ризику генотоксичних ефектів нативного продукту.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Бандман А. Л., Волкова И. В., Грехова Т. Д. и др. Вредные химические вещества. Неорганические соединения элементов V-VIII групп. Л.: Химия, 1989. 595 с.
2. Боднар І. В., Боднар Л. С. Оцінка мутагенної активності новосинтезованих харчових ароматизаторів з використанням про- та еукаріотичних тест-систем // Довкілля і здоров'я. 2012. № 1. С. 70–75.
3. Боднар І. В., Андрейко О. Ю., Боднар Л. С. Виявлення змін на генному рівні у *Salmonella typhimurium* за дії ароматизаторів продуктів харчування // Вісн. Харків. ун-ту. Сер. біол. 2015. Вип. 18. № 1079. С. 65–70.

4. Боднар І. В., Зубко О. С., Щербакова О. В. та ін. Виявлення змін на хромосомному рівні в еукаріотичних організмів за дії синтетичних ароматизаторів продуктів харчування та корегування їх за допомогою вітамінних хіміопреверентерів // Фактори експериментальної еволюції організмів: зб. наук. праць. К., 2016. Т. 18. С. 67–71.
5. Булдаков А. С. Пищевые добавки: справочник. СПб., 1996. 240 с.
6. ВОЗ. Принципы оценки безопасности пищевых добавок и компонентов в продуктах питания // Генетические критерии состояния окружающей среды / ВОЗ. М.: Мир, 1991. 120 с.
7. Габович Р. Д., Припутина Л. С. Гигиенические основы охраны продуктов питания от вредных химических веществ. К.: Здоров'я, 1987. 248 с.
8. Гончаренко Т. П., Гончаренко О. Г. Харчові добавки як об'єкт моніторингових досліджень // Екологія довкілля та безпека життєдіяльності. 2008. № 4. С. 81–84.
9. Дубініна А. А., Малюк Л. П., Селютіна Г. А. Токсичні речовини у харчових продуктах і методи їх визначення. К.: ВД «Професіонал», 2007. 384 с.
10. Дурнев А. Д. Мутагены и антимутагены в продуктах питания // Генетика. 1997. № 33. С. 165–176.
11. Калаев В. Н., Карнова С. С. Цитогенетический мониторинг: методы оценки загрязнения окружающей среды и состояния генетического аппарата организма. ВГУ, 2004. 80 с.
12. Лаврущенко Л. Ф. Основні аспекти механізму токсичної дії ксенобіотиків // Праці VII Укр. біохім. з'їзду. К., 1997. Ч. III. С. 150–151.
13. Мацевич Л. Л., Лукаш Л. Л. Генетична активність важких металів в еукаріотичних клітин // Біополімери і клітина. 2001. Т. 17. № 1. С. 5–19.
14. Росивал Л. Посторонние вещества и пищевые добавки в продуктах. М.: Наука, 1982. 250 с.
15. Смирнов Е. В. Пищевые ароматизаторы: справочник: СПб., Профессия, 2008. 736 с.
16. Смоляр В. І. Токсичні ефекти харчових добавок // Проблеми харчування. 2005. № 1. С. 5–15.
17. Смоляр В. І. Харчова експертиза. К.: Здоров'я, 2005. 505 с.
18. Спейерс Г. О генотоксических канцерогенах // Вопросы питания. 2002. Т. 71. № 1. С. 11–15.
19. Стрижельчик Н. Г., Бариляк И. Р. Мутагенные и антимутагенные свойства пищевых добавок. Х.: ХНУ им. Каразина, 2009. 152 с.
20. Evans H. J. Cytological methods for detecting chemical mutagens. In: Hollaender A. ed. Chemical mutagens: principles and methods for their detection // New York; London: Plenum Press. 1976. N 4. P. 1–29.
21. Maron D. M., Ames B. N. Revised methods for the Salmonella mutagenicity test // Mutat Res. 1983. Vol. 113 (3–4). P. 173–215.
22. Martelmans K., Zeiger E. The Ames Salmonella/microsome mutagenicity test // Mutat Res. 2000. Vol. 455 (1–2). P. 29–60.
23. Verholyak N. S., Peretyatko T. B. Utilization of aromatic compounds by bacteria // Flexibility of aromatic xenobiotics. Studia Biologica. 2018. Vol. 12 (3–4). P. 117–140.

Стаття надійшла до редакції 04.09.19

доопрацьована 03.10.19

прийнята до друку 03.09.19

**DETECTION OF POSSIBLE GENOTOXIC HAZARD  
BY USING SYNTHETIC FLAVOURING «CHERRY»****L. Bodnar, I. Typusiak, S. Horbulinska***Ivan Franko National University of Lviv  
4, Hrushevskiyi St., Lviv 79005, Ukraine  
e-mail: bodnarlidia@ukr.net*

Components of flavourings are usually presented by xenobiotics – improper to the living organisms chemical compounds, that not get into the people's organism with natural products. Every xenobiotic, getting into the organism, can be included in metabolism, influence the genetic material of the cell and therefore lead to more or less important consequences. This work is dedicated to detection of possible mutagenic activity of synthetic flavouring «CHERRY AS00640» with using pro- and eukaryotic test-systems. Induction of chromosome aberration had been studied in two test-systems *Allium cepa* and *Mus musculus* using recommended by producer day dose and also doses that was tenfold increased or reduced. In the test on the meristem cells of onion roots at the different concentrations the chromosome aberrations level under the flavouring action had been exceeded control value. Among the anomalies the most often were double fragment that are the result of deletions and the single and double dicentrics formation as a result of translocation processes. On the mouse bone marrow cells preparations were detected aneuploidy cells and also modified sets of chromosomes. Results of this test correlate with the results received by us in ana-telophase test on *A. cepa*, in all cases were observed dose depended effect. Tests for induction of dominant-lethal mutations in *Drosophila melanogaster* have showed that chemical components of «CHERRY AS00640» flavouring may lead to the emergence of varied changes in genes and chromosomes, which are responsible for normal passing the spermatogenesis processes.

Whereas the flavouring components usually are presented by xenobiotics that in higher eukaryotes organisms may be total or partial biotransformed that are presented by whole complex both enzymatic and spontaneous transformations. It had been conducted researches by us using the Ames test both with and without metabolic activation on *Salmonella typhimurium*. On the Ames test without the metabolic activation was detected induction of gene mutation in comparison with the control under the all studied dose only by the frameshift mechanism. According to the research results with the adding microsomal fraction of homogenate of the rat's liver mutagenic activity with the using of TA-98 strain was not detected which evidence of possibility of formation less active metabolites in the transformation processes in comparison with source ingredients of flavouring which thus leads to decrease the risk of genotoxic effects of native product.

*Keywords:* food flavouring, gene mutations, chromosome aberrations, genotoxicity, biotransformation of xenobiotics