

---

TEZĂ DE DOCTORAT

# **Evaluarea analitică a xenobioticelor disruptive endocrine din alimente - influența matricei și a materialelor de ambalare**

**(REZUMATUL TEZEI DOCTORALE)**

---

Doctorand **Diana TOMA**

---

Conducător științific **Prof. dr. Adela PINTEA**

---





## Introducere

Compușii care perturbă sistemul endocrin au atras o atenție serioasă în ultimii ani datorită implicării lor în sănătatea umană. Asemenea hormonilor, acești compuși pot genera efecte chiar și la concentrații foarte scăzute, provocând perturbări semnificative la nivelul biologic și dezvoltării unui organism viu. Din acest motiv, oamenii de știință din întreaga lume au efectuat studii, atât *in vitro*, cât și *in vivo*, pentru a confirma implicarea acestor compuși în patologii precum diabetul și bolile asociate, obezitatea, infertilitatea, cancerul și disfuncțiile tiroidiene.

Din păcate, compușii perturbatori endocrini, cum ar fi bisfenolul A și unele micotoxine, printre care aflatoxinele, deoxinivalenolul și toxina T-2, sunt larg răspândiți, expunând masiv oamenii din întreaga lume la acești compuși prin alimentație.

Obiectivele acestei teze au fost:

- ✓ Dezvoltarea unei metode de extracție și purificare bazată pe imunoafinitate pentru determinarea aflatoxinelor totale și a aflatoxinei B1 din diferite tipuri de nuci, fructe uscate și mixuri disponibile pe piața din România.
- ✓ Determinarea aflatoxinelor totale și a aflatoxinei B1 din extractele purificate obținute din nuci, utilizând kituri ELISA bazate pe reacția antigen-anticorp.
- ✓ Aplicarea testelor statistice avansate pentru a diferenția nivelurile de aflatoxine totale și aflatoxină B1 în probele alimentare în funcție de materialele de ambalare.
- ✓ Extracția și purificarea a treisprezece tricotecene de tip A și B din produse de panificație, paste și probe de grâu de pe piața românească, utilizând diferite amestecuri de solvenți și extracția în fază solidă.
- ✓ Analiza tricotecenelor prin cromatografie gazoasă cuplată cu spectrometrie de masă.
- ✓ Dezvoltarea unei metode HPLC-FLD pentru cuantificarea bisfenolului A în probe biologice și aplicarea acesteia pe un model de cultură celulară (celule RPE).
- ✓ Evaluarea citotoxicității bisfenolului A și a efectului său asupra statusului antioxidant al celulelor RPE, în prezența sau absența zeaxantinei.

Primele trei capitole ale tezei conțin stadiul actual al cunoașterii, scopurile și obiectivele. Rezultatele obținute în această lucrare sunt prezentate în capitolele 4, 5 și 6 ca cercetare originală. Acestea sunt menite să aducă o contribuție semnificativă la datele existente cu privire la două tipuri majore și problematice de contaminanți alimentari: micotoxinele și bisfenolul A.

## **Studiul 1– Incidența aflatoxinelor în nuci și nuci uscate de pe piața din România ambalate în patru tipuri diferite de ambalaje plastice**

### **1. Introducere și scop**

Micotoxinele sunt metaboliți secundari cu masă moleculară mică, produși de diverse ciuperci capabile să crească pe diferite produse agricole. Consumul de alimente contaminate cu micotoxine duce la efecte adverse asupra sănătății umane, cum ar fi efecte cancerigene, estrogenice, neurotoxice, hepatotoxice, teratogene și chiar imunosupresive, provocând astfel boli acute sau cronice (Diaz, 2005; Agriopoulou et al., 2020).

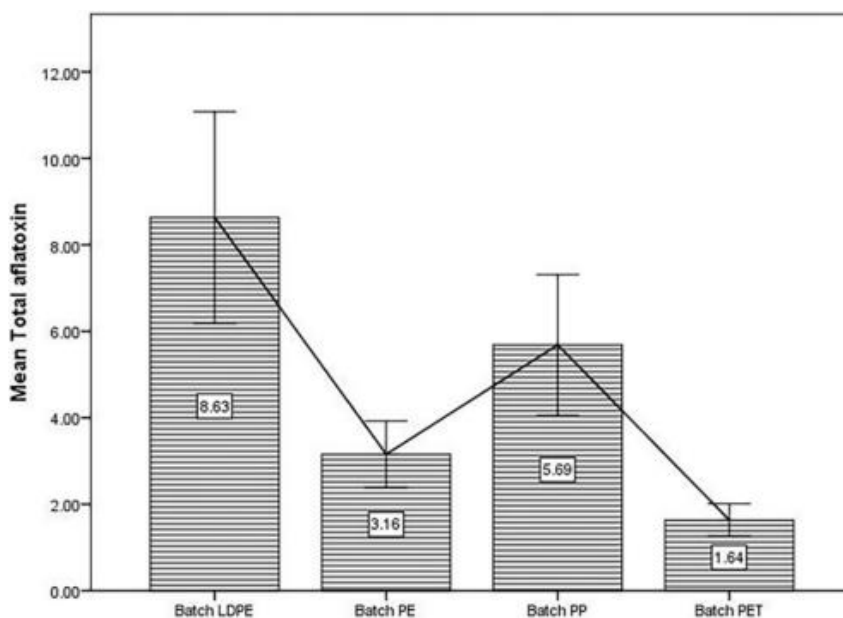
Având în vedere că nucile și fructele uscate sunt consumate în cantități mari de populația mondială, în prezentul studiu am investigat incidența micotoxinelor în aceste tipuri de produse. De asemenea, am investigat efectul ambalajelor din plastic asupra nivelului de aflatoxine totale și de aflatoxină B1, cunoscute ca factori favorizanți în apariția carcinomului hepatocelular la om.

### **2. Materiale și metode**

Matricele alimentare au fost reprezentate de 64 de probe din diferite tipuri de nuci și mixuri (ex. fistic, arahide, fructe uscate, alune de pădure, nuci) de pe piața românească, ambalate în pungi de PET (polietilen tereftalat), PP (polipropilenă), LDPE (polietilenă cu densitate mică) și PE (polietilenă). Probele au fost împărțite în 4 grupuri experimentale în funcție de tipul de ambalaj. Toate probele au fost supuse unei extracții cu metanol, urmată de un pas de purificare utilizând coloane de imunoafinitate. Prin purificarea extractului, specificitatea și sensibilitatea au fost îmbunătățite, rezultând o precizie și o acuratețe mai bune. Pentru determinările cantitative ale aflatoxinelor totale și Afb1, am utilizat kiturile de laborator RIDASCREEN FAST Aflatoxin și RIDASCREEN FAST Aflatoxin B1, respectiv, bazate pe testul imunoenzimatic (ELISA).

### **3. Rezultate și discuții**

Din totalul de 64 de probe analizate pentru conținutul de aflatoxine totale, 60 (93,75%) au fost pozitive și 4 (6,25%) au fost sub limita de detecție ( $<1 \mu\text{g}/\text{kg}$ ) pentru aflatoxine. Dintre probele pozitive, 9 (14,06%) au depășit nivelul maxim admis de Regulamentul CE nr. 1881/2006 și Regulamentul Comisiei (CE) nr. 165/2010 (Comisia UE, 2010). Probele care au depășit valorile tolerate de aflatoxine totale au fost: 3 probe de amestec de fructe și nuci cu cea mai mare valoare de  $12,46 \mu\text{g}/\text{kg}$  din grupul LDPE, 1 probă de porumb prăjit cu  $7,81 \mu\text{g}/\text{kg}$  din grupul LDPE, 1 probă de alune crude cu  $12,15 \mu\text{g}/\text{kg}$  din grupul LDPE, 1 probă de sămburi de caise cu  $10,67 \mu\text{g}/\text{kg}$  din grupul LDPE, 1 probă de arahide crude cu  $8,22 \mu\text{g}/\text{kg}$  din grupul LDPE, 1 probă de arahide crude cu  $4,4 \mu\text{g}/\text{kg}$  din grupul PE și 1 probă de porumb prăjit cu  $5,04 \mu\text{g}/\text{kg}$  din grupul PP. Grupul PP a avut o valoare maximă de  $7,36 \mu\text{g}/\text{kg}$ , iar pentru grupul PE a fost de  $4,4 \mu\text{g}/\text{kg}$ . Cea mai mare valoare din grupul PET pentru aflatoxine totale a fost obținută dintr-o probă de migdale crude, adică  $2.13 \mu\text{g}/\text{kg}$ . Rezultatele pentru aflatoxinele totale sunt prezentate în Fig.1.



Error Bars: Mean  $\pm$  SD

**Figure 1.** Mean concentration of total aflatoxins ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) and calculated standard deviation corresponding to each batch of screened samples.

Toate datele din fiecare grup au fost incluse în analiza statistică, cu excepția a 4 probe din grupul PET, care au fost sub limita de detecție ( $<1 \mu\text{g}/\text{kg}$ ) pentru aflatoxine totale. În urma statisticii descriptive, cea mai mare valoare medie pentru aflatoxinele totale a provenit din probele grupului LDPE (Tabelul 1).

**Table 1.** Descriptive statistics for total aflatoxins ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ).

Treatment	LDPE Group	PE Group	PP Group	PET Group
Observations (n)	15	15	15	15
Mean $\pm$ std dev.	$8.63 \pm 2.44$	$3.16 \pm 0.77$	$5.69 \pm 1.62$	$1.64 \pm 0.37$
Min-Max	3.45–12.46	2.15–4.40	2.79–7.63	1.14–2.13

(n)-number of samples from each group; std dev-standard deviation; Min-minimum; Max-maximum; LDPE-low-density polyethylene; PE-polyethylene; PP-polypropylene; PET-polyethylene terephthalate.

Concentrațiile de AFB1 din toate probele analizate au avut valori mai mici decât limitele maxime impuse de legislație, cu excepția unei probe de alune crude din grupul LDPE, care a avut o valoare de  $5,78 \mu\text{g}/\text{kg}$ . Grupul PE a prezentat cele mai mici valori medii. Datele din grupul PET au fost excluse din analiza statistică datorită faptului că majoritatea concentrațiilor au fost sub limita de detecție de  $1 \mu\text{g}/\text{kg}$ .

## **Studiul 2 – Incidența tricotecenelor de tip A și de tip B în produse cerealiere vândute pe piața din România**

### **1. Introducere și scop**

Monitorizarea expunerii la diferite micotoxine a devenit o parte esențială pentru asigurarea siguranței alimentelor. Obiectivul principal al prezentului studiu a fost evaluarea prezenței micotoxinelor tricotecene în produsele de panificație, pastele și grâul consumate în România. Metoda GC-MS a fost utilizată pentru a determina simultan prezența a 13 tricotecene: DON, NIV, SCIRP, T2-TETRAOL, FUS-X, MAS, 15-ADON, 3-ADON, T2 TRIOL, NEO, DAS, HT-2, T-2 în probele menționate mai sus.

### **2. Materiale și metode**

Un total de 121 de probe de grâu, produse de panificație și paste au fost colectate aleatoriu de pe piața românească. Toate probele colectate au fost împărțite în 5 grupuri: grupul A (pâine albă), grupul B (pâine semi-neagră), grupul C (pâine neagră), grupul D (paste), grupul E (grâu din județele Timiș, Alba și Cluj). Toate probele au fost supuse unei extracții cu amestecuri de solvenți, urmată de un pas de purificare prin extracție în fază solidă și apoi analizate prin GC-MS pentru determinarea tricotecenelor.

### **3. Rezultate și discuții**

Metoda GC-MS a fost aplicată pentru a determina prezența a treisprezece tricotecene de tip A și tip B în probe de grâu, pâine, produse de panificație și paste comercializate în România. Un rezumat al contaminării în probele analizate este prezentat mai jos (Tabelul 1).

În ceea ce privește produsele de panificație, cel mai ridicat nivel de DON a fost găsit în grupul B (192  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) și cea mai mică valoare în grupul D (21  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ). Referitor la probele de grâu, cel mai ridicat nivel de DON a fost găsit în subgrupul E3 (509,50  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ). Cel mai mic nivel a fost găsit în subgrupul E1 (205,50  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ). Subgrupul E2 a înregistrat o valoare de 502,50  $\mu\text{g}/\text{kg}$ .

Din toate probele analizate, HT-2 a fost identificat în 21 de probe de grâu din toate cele trei județe și într-o probă din grupul A (pâine bio), unde concentrația a fost de 3  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Niciuna dintre probele din grupurile B, C și D nu a fost contaminată cu HT-2.

Din totalul de 121 de probe analizate, 90,08% (109) au fost contaminate cu una (77,06%), două (11%), trei (10,09%) sau patru tricotecene (1,83%). Din toate probele supuse studiului nostru, 12 (9,92%) au fost necontaminate cu tricotecene.

**Table 1. Summary of the occurrence of trichothecenes type A and Type B in analyzed samples.**

Sample type	Toxin detected	No. of positive samples	Range ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )
Group A	DON	29	15-352
	HT-2	1	3
	T-2	1	5
Group B	DON	13	50-346
Group C	DON	14	15-326
Group D	DON	15	15-35
Group E			
Subgroup E <sub>1</sub>	DON	12	70-1346
	15-DON	2	6-9
	HT-2	7	3-7
Subgroup E <sub>2</sub>	DON	8	21-3395
	15-DON	5	6-99
	DAS	1	19
	HT-2	4	5-8
Subgroup E <sub>3</sub>	T-2	1	7
	DON	18	41-2048
	15-DON	8	8-52
	HT-2	10	3-18
	NIV	1	30

Din cele 13 tricotecene investigate în probele analizate, SCIRP, T2-TETRAOL, FUS-X, MAS, 3-ADON, T2-TRIOL și NEO nu au fost detectate în niciun lot. DAS a fost găsit doar într-o probă de grâu provenită din județul Alba (subgrupul E<sub>2</sub>) cu o concentrație de 19  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . NIV a fost identificat doar într-o probă de grâu provenind din județul Cluj, cu o concentrație de 30  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . În ceea ce privește micotoxina T-2, aceasta a fost identificată în două probe: una de pâine bio (grupul A) (5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) și una de grâu din județul Alba (7  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ). Aceeași probă de pâine bio în care a fost detectată micotoxina T-2 a fost contaminată atât cu DON, cât și cu HT-2, în concentrații de 48  $\mu\text{g}/\text{kg}$  și, respectiv, 3  $\mu\text{g}/\text{kg}$ .

## Studiul 3- Effectul bisfenolului A asupra liniei de celule umane de retină D407

### 1.Introducere și scop

Studiul de față își propune să exploreze citotoxicitatea bisfenolului A asupra celulelor retiniene epiteliale pigmentare (RPE), în încercarea de a aduce informații noi referitoare la efectul nociv al BPA asupra retinei. Din câte știm, există o lipsă de informații privind activitatea antioxidantă a zeaxantinei în prezența bisfenolului A ca inductor de stres oxidativ. Prin urmare, am intenționat să studiem posibilul efect protector al zeaxantinei împotriva activității oxidative a bisfenolului A asupra aceleiași linii celulare. De asemenea, am dezvoltat o metodă HPLC-FLD pentru cuantificarea bisfenolului A, care a fost ulterior utilizată pentru a demonstra că BPA poate fi preluat de celulele RPE.

## 2. Materiale și metode

Modelul *in vitro* ales a fost linia celulară retiniană epitelială pigmentară (RPE) D407. Celulele au fost tratate cu diferite concentrații (5-100  $\mu\text{M}$ ) de BPA (Sigma Aldrich, Germania) pentru a observa efectul citotoxic al BPA asupra celulelor D407 și pentru a evalua efectul protector al zeaxantinei (20  $\mu\text{M}$ ). Acest experiment comparativ a implicat pretratarea celulelor RPE timp de 24 de ore cu zeaxantină, înainte de administrarea BPA. Viabilitatea celulară a fost evaluată folosind testul MTT. Numărul de celule apoptotice și necrotice a fost măsurat prin citometrie în flux folosind kitul de colorare cu Annexin V-FITC și iodură de propidiu (PI). Evaluarea generării de ROS a fost realizată printr-un test de fluorescență semi-caantitativ cu DCF-DA (2', 7'-dicloro-fluoresceină diacetat) după pretratarea cu zeaxantină și tratamentul cu BPA. O metodă HPLC-FLD utilizând coloană C18 și elutie în gradient a fost dezvoltată pentru a evalua internalizarea BPA în celulele D407.

## 3. Rezultate și discuții

Citotoxicitatea BPA asupra celulelor D407 a fost evaluată după ce celulele au fost tratate cu compusul la diferite concentrații și durate de tratament. Rezultatele noastre arată o diferență în ceea ce privește viabilitatea celulelor în funcție de influența zeaxantinei în mediul celular. De asemenea, se poate observa că tratamentul cu BPA a redus viabilitatea celulelor D407 într-un mod dependent de doză. După 24 de ore de expunere la BPA, cea mai mică viabilitate a fost observată în celulele tratate cu 100  $\mu\text{M}$  BPA, pentru ambele grupuri, cele pretratate și cele netratate cu zeaxantină, unde rata de supraviețuire a fost de 69% și respectiv 57%. Singurul studiu care a examinat citotoxicitatea BPA în celulele RPE a relevat că pentru 10  $\mu\text{M}$  BPA viabilitatea a scăzut semnificativ (la 80%) doar după perioade mai lungi de expunere (8, 24h) (Chiang et al., 2021).

Numărul de celule apoptotice și necrotice a fost măsurat utilizând kitul de colorare Annexin V-FITC și iodură de propidium (PI). După expunerea la 25, 50 și 100  $\mu\text{M}$  BPA, ratele de apoptoză (Q4) au fost de 5.2%, 4.8% și 6.8%, respectiv. În ceea ce privește grupul care a primit pretratament cu zeaxantină, ratele de apoptoză (Q4) au fost de 4.4%, 4.1% și 6.4% pentru aceleași concentrații de BPA.

Nivelurile de ROS sunt mai mari în celulele tratate doar cu BPA și mai scăzute în celulele care au primit zeaxantină. Acest lucru subliniază potențialul efect protector al zeaxantinei împotriva acțiunii oxidative a BPA asupra celulelor D407. Când celulele HCT116 au fost expuse la BPA, s-a observat influența asupra generării de ROS intracelulară, proliferării și apoptozei celulelor (Qu et al., 2018).

Folosind metoda HPLC-FLD propusă, am aplicat-o cu succes pentru a verifica internalizarea BPA, la o concentrație de 50  $\mu\text{M}$ , în celulele D407. După o extracție adecvată, probele de mediu și celule pretratate cu bisfenol A au fost analizate. În probele netratate cu zeaxantină, s-a cuantificat o concentrație de 0.0149 ng BPA/mg proteină în mediu și 0.050 ng BPA/mg proteină în celule, respectiv.



## 7. Concluzii generale și recomandări

Obiectivele acestei teze pot fi împărțite în trei perspective principale. În primul rând, ne-am propus să investigăm prezența aflatoxinelor totale și a aflatoxinei B1, un factor cauzal pentru carcinomul hepatocelular uman, în mai multe tipuri de nuci, precum și impactul tipului de ambalaj din plastic asupra nivelului de contaminare cu aflatoxine. În al doilea rând, am considerat oportun să evaluăm prezența a treisprezece tricotecene în alimente de bază consumate de populația română, cum ar fi pâinea și produsele de panificație, având în vedere că unele dintre aceste micotoxine sunt nu doar extrem de toxice, ci prezintă și activitate disruptivă endocrină în organismele vii. În cele din urmă, dar nu în ultimul rând, am dorit să acordăm atenție unui alt subiect important, toxicitatea bisfenolului A asupra celulelor retiniene umane.

În concluzie, putem spune următoarele:

**În capitolul patru (Studiul 1)**, având în vedere că nucile și fructele uscate sunt consumate frecvent, am investigat contaminarea cu aflatoxine totale și aflatoxină B1 a 64 de tipuri diferite de probe din această categorie alimentară, folosind metoda ELISA. Printre matricele alimentare analizate s-au numărat fisticul, alunele crude, nucile de Brazilia, nucile, mixul de fructe și nuci, arahidele, porumbul și fructele deshidratate. Probele au fost împărțite în patru grupuri experimentale conform tipului de ambalaj: LDPE, PE, PP și PET pentru a investiga efectul materialului de plastic asupra nivelului de contaminare cu micotoxine. Rezultatele indică faptul că metoda utilizată pentru extragerea, purificarea și cuantificarea micotoxinelor este rapidă, sensibilă și de încredere. Contaminarea cu aflatoxine totale a fost observată în 93,75% dintre probele analizate. Aflatoxina B1 a fost observată în 75% dintre probele supuse screening-ului. În general, porumbul, fisticul, arahidele și fructele uscate au fost mai predispuse la contaminare. Pe baza rezultatelor obținute, concluzionăm că probele ambalate în PET au avut semnificativ cele mai scăzute concentrații de AFB1, urmate de PE, PP și LDPE. De asemenea, aceasta a fost situația și în cazul conținutului de aflatoxine totale în toate probele analizate.

**În capitolul cinci (Studiul 2)**, obiectivul a fost evaluarea incidenței micotoxinelor tricotecene din mai multe alimente de bază consumate în România, cum ar fi produsele de panificație, pastele și grâul. Folosind metoda GC-MS, am determinat simultan prezența a 13 tricotecene de tip A și B: DON, NIV, SCIRP, T2-TETRAOL, FUS-X, MAS, 15-ADON, 3-ADON, T2 TRIOL, NEO, DAS, HT-2, T-2 în pâinea albă, pâinea semi-brună și pâinea brună (pentru a acoperi toate preferințele consumatorilor), paste și probe de grâu. Din toate micotoxinele investigate, șase au fost identificate în probele analizate: DON, HT-2, T-2, 15-ADON, DAS și NIV. De departe, micotoxina predominantă a fost DON, și a fost găsită în 90,62% din produsele de panificație din făină albă, în 92,85% din produsele de panificație din făină integrală, în 100% din produsele de panificație care conțin făină de secară, precum și în 78,94% din probele de paste și în 90,47% din probele de grâu. Micotoxina 15-ADON a fost prezentă doar în două probe de grâu și în concentrații mici. HT-2 a fost detectat în probe de grâu din toate cele trei județe și doar într-o probă de pâine. DAS și NIV au fost găsite fiecare doar într-o probă de grâu, în timp ce micotoxina T-2 a fost identificată într-o probă de pâine bio și într-o probă de grâu. Din toate probele supuse studiului nostru, doar 12 (9,92%) au fost necontaminate cu tricotecene, majoritatea fiind

Evaluarea analitică a xenobioticelor disruptoare endocrine din alimente - influența matricei și a materialelor de ambalare

---

produse de panificație. Aceste rezultate subliniază necesitatea unui control constant pentru a preveni ingestia de micotoxine de către populația din România prin alimente pe bază de cereale.

**În capitolul cinci (Studiul 3)**, am venit cu ideea de a investiga toxicitatea bisfenolului A asupra celulelor umane de pigment epitelial retinal D407 și, de asemenea, de a verifica dacă zeaxantina ar putea oferi o protecție antioxidantă împotriva activității bisfenolului A. Am observat că proliferarea celulară este influențată de concentrația de BPA, precum și apoptoza, și că, în celulele pretratate cu zeaxantină, viabilitatea este influențată pozitiv de acest antioxidant. Generarea de ROS intracelular a fost observată și crește într-o manieră dependentă de doză. Folosind metoda HPLC-FLD, am evaluat cu succes internalizarea BPA în celulele D407.

Evaluarea toxicității bisfenolului A utilizând teste *in vitro* ar putea oferi o mai bună înțelegere a mecanismelor de acțiune ale acestui compus. În viitor, ar trebui acordată atenție antioxidantilor naturali care au capacitatea de a contracara efectele negative ale contaminanților găsiți în alimentele noastre de zi cu zi.

De asemenea, trebuie acordată o atenție specială efectelor detaliate ale tipului de ambalaj din plastic asupra concentrației de micotoxine în produsele alimentare.

Bisfenolul A este încă sub atenția organizațiilor de reglementare din cauza efectului său toxic asupra sănătății umane și a prezenței sale ubiquitare. Acesta poate pătrunde în organismul uman și din surse non-dietetice, ceea ce subliniază necesitatea continuării investigațiilor pentru detectarea BPA în țesuturi și probe biologice.

## 8. Originalitate și contribuții personale

Rezultatele prezentate în această teză ar putea adăuga informații valoroase privind două probleme majore de contaminare: micotoxinele și bisfenolul A. De ce am ales să studiem aceste substanțe? Ei bine, în prezent, oamenii sunt expuși la mulți compuși chimici, un cocktail de substanțe chimice, așa cum am putea spune, multe dintre ele fiind toxice și având efecte pe termen lung asupra organismului uman, în special dacă acestea afectează sistemul endocrin. Contaminarea chimică a alimentelor este reală și apare în orice etapă a lanțului alimentar.

Aflatoxinele totale și aflatoxina B1 pot fi găsite în multe produse alimentare, inclusiv diferite tipuri de nuci și fructe uscate, care sunt consumate frecvent pentru avantajele lor nutriționale și sunt considerate gustări între mese. Deși ambalajul din plastic este în prezent sub atenția cercetătorilor și a organizațiilor de reglementare, foarte puține studii se concentrează pe impactul tipului de ambalaj asupra contaminării cu micotoxine.

Din ceea ce am observat, determinarea simultană a micotoxinelor cu impact economic, cum ar fi tricotecinele de tip A și B, în diferite matrici alimentare nu a fost realizată foarte des până acum. Metoda GC-MS aplicată pentru probele selectate a oferit rezultate excelente și, prin analiza simultană a 13 tricotecine, considerăm că am adus avantajul reducerii timpului de analiză. De asemenea, subiectul tricotecinelor este încă puțin explorat în ceea ce privește contaminarea produselor de panificație disponibile pe piața din România.

Deși în ultimii ani a fost multă îngrijorare cu privire la impactul negativ al bisfenolului A asupra sănătății umane, există o lipsă de dovezi în ceea ce privește testarea *in vitro* pe celulele retiniene umane. Prin urmare, am considerat oportun să evaluăm apoptoza, viabilitatea și generarea de ROS, care pot fi influențate de prezența bisfenolului A. De asemenea, am abordat posibilitatea de a diminua efectele negative ale bisfenolului A asupra celulelor retiniene umane

prin intermediul zeaxantinei, care a fost mai puțin studiată în prezența perturbatorilor endocrini, cum ar fi bisfenolul A. Ne-am propus să dezvoltăm și o metodă de cromatografie lichidă cuplată cu detector de fluorescență pentru a evalua internalizarea bisfenolului A în celule, metodă care poate fi aplicată pentru a evalua prezența bisfenolului A în țesuturile umane sau în probele biologice.

## Referințe bibliografice

1. Agriopoulou, S., Stamatelopoulou, E., & Varzakas, T. (2020). Advances in Occurrence, Importance, and Mycotoxin Control Strategies: Prevention and Detoxification in Foods. *Foods*, 9, 137.
2. Chiang, Y.W., Su, C.H., Suhn, H.Y., Chen, S.P., Chen, C.J., Chen, W.H., Chang, C.C., Chen, C.M., Kuan, Y.H. (2021). Bisphenol A induced apoptosis via oxidative stress generation involved Nrf2/HO-1 pathway and mitochondrial dependent pathways in human retinal pigment epithelium (ARPE-19) cells. *Environmental Toxicology*. 2022;37:131-141. DOI: 10.1002/tox.23384.
3. Commission Regulation (EU). 2023/915 of 25 April 2023 on Maximum Levels for Certain Contaminants in Food and Repealing Regulation (EC) No 1881/2006. *OJEU* 2023, 119, 103-157. Available online: <https://eur-lex.europa.eu/legalcontent/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:32023R0915>
4. Diaz, D. (2005). *The Mycotoxin Blue Book*. Nottingham University Press: Nottingham, UK, (p. 187-201).
5. Qu, W., Zhao, Z., Chen, S., Zhang, L., Wu, D., Chen, Z. (2018). Bisphenol A suppresses proliferation and induces apoptosis in colonic epithelial cells through mitochondrial and MAPK/AKT pathways. *Lfs.*, 208,167-174. .doi:10.1016/j.lfs.2018.07.040.