



**Информация за
научно становище на Европейския орган по безопасност на храните относно
оценка на безопасността на хранителния ензим манан ендо-1,4-β-манозидаза от
генетично модифициран щам *Trichoderma reesei* RF6232**

*По искане от Европейската комисия, Панелът Материали за контакт с храни, ензими и помощни средства за обработка (СЕР) на Европейския орган по безопасност на храните (ЕОБХ) публикува на 22 август 2022 г. оценка на безопасността на хранителния ензим манан ендо-1,4-β-манозидаза от генетично модифициран щам *Trichoderma reesei* RF6232.*

*Хранителният ензим манан ендо-1,4-β-манозидаза (1,4-β-d - манан мананохидролаза, ЕС 3.2.1.78) се произвежда с генетично модифицираната (ГМ) нишковидна гъба *Trichoderma reesei* щам RF6232. Генетичните модификации не пораждават опасения за безопасността. Счита се, че TOS на ензима не съдържа жизнеспособни клетки на производствения организъм и рекомбинантна ДНК. Предназначен е за използване при преработка на кафе, преработка на плодове и зеленчуци за производство на сокове и за производство на растителни масла за хранителни цели. Тъй като остатъчните количества от органичната материя в състояние на суспензия *total organic solids* (TOS) се отстраняват по време на производството на рафинирано ядивно масло чрез многократно измиване, хранителната експозиция е изчислена само за останалите два технологични процеса.*

Панелът Food Contact Materials, Enzymes and Processing Aids (СЕР) счита, че при предвидените условия на употреба рискът от алергична сенсibiliзация и реакции на предизвикване чрез хранителна експозиция не може да бъде изключен, по-специално за лица, алергични към авокадо, но вероятността това да се случи се счита за ниска. Въз основа на предоставените данни панелът СЕР заключи, че този хранителен ензим не поражда опасения за безопасността при предвидените условия на употреба.

Хранителната експозицията на TOS на ензима се оценява до 0,09 mg TOS/kg телесно тегло (m.m.) на ден за населението на Европейския съюз (ЕС). Тестовете за генотоксичност не повдигнаха опасения за безопасността. Системната токсичност е оценена чрез 90-дневно проучване на токсичността при плъхове с повтаряща се доза при перорално приложение. Панелът СЕР определи ниво без наблюдаван неблагоприятен ефект (NOAEL) от 100 mg TOS/kg m.m. на ден, което е най-ниската тествана доза. Това води до граница на експозиция над 1100. Направено е търсене на сходство на аминокиселинната последователност на хранителния ензим с известни алергени и е намерено едно съвпадение.

Панелът СЕР счита, че при предвидените условия на употреба, рискът от алергична сенсibiliзация и реакции на свърхчувствителност чрез хранителна експозиция не може да бъде изключен, по-специално за лица, алергични към авокадо, но вероятността това да се случи се счита за ниска. Въз основа на предоставените

Amber Green White

гр. София, 1618, бул. "Цар Борис III" № 136
<https://corhv.government.bg>, corhv@mzh.government.bg

тел. 02/ 427 30 56

данни, панелът СЕР заключава, че този хранителен ензим не поражда опасения за безопасността при предвидените условия на употреба.

1. Въведение

Регламент (ЕО) № 1332/2008¹ относно хранителните ензими се прилага за ензими, които се добавят към храните, за да изпълняват технологична функция при производството, преработката, подготовката, обработката, опаковането, транспортирането или съхранението на храни, включително ензими, използвани като помощни средства при обработката. Регламент (ЕО) № 1331/2008² установява процедури на ЕС за оценка на безопасността и процедурата за разрешаване на добавките в храните и ароматизантите в храните.

Всички ензими в храните, които се предлагат на пазара на ЕС трябва да преминат оценка за безопасност, извършвана от Европейския орган за безопасност на храните (ЕОБХ) и процедура по разрешаване, посочена в Регламент (ЕО) № 1331/2008.

Само хранителни ензими, включени в списъка на ЕС, могат да бъдат пуснати на пазара като такива и използвани в храни, в съответствие със спецификациите и условията за употреба, предвидени в член 7, параграф 2 от Регламент (ЕО) № 1332/2008.

Настоящото научно становище отговаря на искането на Европейската комисия (ЕК) за извършване на оценка на безопасността на хранителния ензим манан ендо-1,4-бета-манозидаза (b-мананаза) от ГМ *Trichoderma reesei* (щам RF6232).

2. Оценка

Манан ендо-1,4-β-манозидазите катализират хидролиза на 1,4-β-d- гликозидни връзки в манани, галактоманани и глюкоманани, което води до генерирането на β-1,4-маноолигозахариди. Ензимът в храните, предмет на оценката, е предназначен за използване при преработка на кафе, преработка на плодове и зеленчуци за производство на сокове и за производство на хранителни масла.

3. Източник на хранителния ензим

Манановата ендо-1,4-b-манозидаза се произвежда с ГМ филаментозна гъба *Trichoderma reesei* щам RF6232, която е депозирана в колекцията от култури Westerdijk Fungal Biodiversity Institute (Холандия).

4. Чистота

Оценяваният ензим в храните отговаря на микробиологичните критерии (за общи колиформи, *Escherichia coli* и *Salmonella*), както е посочено в общите спецификации за ензими, използвани в хранителната обработка³. Не е открита антимикробна активност в

¹ Регламент (ЕО) № 1332/2008 на Европейския парламент и на Съвета от 16 декември 2008 г. относно хранителните ензими и изменение на Директива 83/417/ЕИО на Съвета, Регламент (ЕО) № 1493/1999 на Съвета, Директива 2000/13/ЕО, Директива 2001/112/ЕО на Съвета и Регламент (ЕО) № 258/97 ОВ L 354, 31.12.2008 г., стр. 7–15.

² Регламент (ЕО) № 1331/2008 на Европейския парламент и на Съвета от 16 декември 2008 година за установяване на обща разрешителна процедура за добавките в храните, ензимите в храните и ароматизантите в храните OJ L 354, 31.12.2008, р. 1–6

³ FAO/WHO (Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization), 2006. General specifications and considerations for enzyme preparations used in food processing in Compendium of food additive specifications. 67th meeting. FAO JECFA Monographs, 3, 63–67.

Amber Green White

гр. София, 1618, бул. "Цар Борис III" № 136
<https://corhv.government.bg>, corhv@mzh.government.bg

тел. 02/ 427 30 56

ните една от тестваните партии. Щамовете на *Trichoderma*, както и повечето нишковидни гъби, имат способността да произвеждат набор от вторични метаболити. Наличието на афлатоксин В1, В2, G1 и G2, стеригматоцистин, охратоксин А, фумонизин В2, зеараленон, дезоксиниваленон, Т2-токсин и НТ2-токсин беше изследвано в четирите партии хранителни ензими. Всички са под LoQ на прилаганите аналитични методи, с изключение на Т2-токсина, открит при нива до 24,5 lg/kg.

Като се вземат предвид предложените нива на употреба и резултатите от токсикологичното изследване на TOS на ензима, концентрацията на Т2-токсин в ензима в храните не се счита за повод за безпокойство. Възможното наличие на други опасни вторични метаболити се разглежда чрез токсикологично изследване TOS на ензима. Панелът СЕР счита, че предоставената информация за чистотата на TOS на ензима е достатъчна.

5. Алергичност

Оценката на алергенността взема предвид само TOS на ензима, но не и носител или друго помощно вещество, което може да се използва в крайната формула.

Потенциалната алергенност на манан ендо-1,4-β-манозидазата, произведена с ГМ *T. reesei* щам RF6232, е оценена чрез сравняване на неговата аминокиселинна последователност с тази на известни алергени, съгласно „Научното становище относно оценката на алергенността на ГМ растения и микроорганизми и производни храни и фуражи на Научния панел по генетично модифицирани организми“ към ЕОБХ⁴.

При използване на по-висока от 35% идентичност в плъзгащ се прозорец от 80 аминокиселини, като критерий, е намерено едно съвпадение. Съответстващият алерген е ендохитиназа от авокадо (*Persea americana*). Няма налична информация за орална и респираторна сенсибилизация или реакции на свръхчувствителност на ензима манан ендо-1,4-β-манозидаза.

В становището се посочва, че има съобщен случай на анафилаксия, дължаща се на α-манозидаза от *Auricularia* (базидиомицет), но в литературата не са докладвани алергични реакции при излагане на храна с манан ендо-1,4-β-манозидаза.

При производственият процес, гъбичната биомаса и твърдите частици в резултат на ферментационния процес се отстраняват. Вземайки предвид процеса на ферментация и последващата преработка, панелът СЕР счита, че не се очаква да присъстват потенциално алергенни остатъци от тези храни, използвани като източници на протеини.

Панелът СЕР счита, че при предвидените условия на употреба не може да се изключи рискът от алергична сенсибилизация и реакции на свръхчувствителност при хранителна експозиция на този ензим в храните, по-специално за лица, алергични към авокадо, но рискът няма да бъде по-висок от този, свързан с консумацията на авокадо.

6. Хранителна експозиция

Ензимът манан ендо-1,4-β-манозидаза е предназначен за използване в три процеса на производство на храни при препоръчителните нива на употреба:

⁴ EFSA GMO Panel (EFSA Panel on Genetically Modified Organisms), 2010. Scientific Opinion on the assessment of allergenicity of GM plants and microorganisms and derived food and feed. EFSA Journal 2010;8(7):1700, 168 pp.

Amber Green White

гр. София, 1618, бул. "Цар Борис III" № 136
<https://corhv.government.bg>, corhv@mzh.government.bg
тел. 02/ 427 30 56



• **При обработката на кафе**, манан ендо-1,4-β-манозидаза заедно с пектинази и глюканази могат да бъдат добавени към концентрата на течния екстракт от кафе за хидролизиране на хемицелулозата, от която мананите са част, намалявайки вискозитета на екстракта от кафе. Профилът на рН на манан ендо-1,4-β-манозидаза, произведена от *T.reesei* щам RF6232, го прави подходящ и за хидролизиране на галактомананите в течен екстракт от кафе, като инхибира образуването на гел по време на сублимационно сушене на разтворимо кафе. TOS на ензима остава в разтворимото (инстантно) кафе.

• **При обработката на плодове и зеленчуци**, хранителният ензим се добавя към депектинизирания (с отстранените пектини) плодов сок, за да подпомогне избистрянето. Поради високата концентрация на манани, манан ендо-1,4-β-манозидазата е полезна при обработката на плодове от ананас за производство на сок. TOS на ензима ще остане в плодovия сок. Въпреки, че ензимът в храни може да се използва и при обработката на други видове плодови продукти, заявителят уточнява, че тази манан ендо-1,4-β-манозидаза в момента се използва само в производството на плодови сокове.

• **При производството на растителни масла за хранителни цели**, ензимът се добавя към маслодайни семена или плодова каша по време на мокра обработка. Действието на манан ендо-1,4-β-манозидаза подпомага освобождаването на маслото, съдържащо се в клетъчната стена. Полученото сурово масло ще бъде допълнително рафинирано в растително масло за консумация от човека. TOS на ензима се отстранява от крайните масла за човешка консумация чрез многократно измиване по време процеса на обезмиряване⁵.

7. Оценка на хранителната експозиция

Хранителната експозиция на TOS на ензима е изчислена само за процесите на производство на храни, при които TOS на ензима остава в крайните храни, а именно обработка на кафе и обработка на плодове и зеленчуци за производство на сок. Най-високата хранителна експозиция се оценява на около 0,086 mg TOS/kg т.т. на ден при деца на възраст 3–9 години при 95-ия перцентил.

Сравняването на изчислената средна експозиция от 0–0,048 mg TOS/kg т.т. на ден и на 95-ия перцентил на експозицията от 0–0,086 mg TOS/kg т.т. на ден с NOAEL (100 mg TOS/kg т.т. на ден), изведен от 90-дневно проучване на токсичността при плъхове, показва граница на експозиция (MoE) от поне 1163.

8. Заключение

Въз основа на предоставените данни, отстраняването на TOS по време на производството на масла за човешка консумация и получената граница на експозиция за обработка на кафе и обработка на плодове и зеленчуци за производство на сок, панелът CEP заключава, че TOS на ензима манан ендо-1,4-β-манозидаза, произведен с ГМ щам *Trichoderma reesei* RF6232, не поражда опасения за безопасността при предвидените

⁵ EFSA CEP Panel (EFSA Panel on Food Contact Materials, Enzymes and Processing Aids), Lambre C, Barat Baviera JM, Bolognesi C, Cocconcelli PS, Crebelli R, Gott DM, Grob K, Lampi E, Mengelers M, Mortensen A, Riviere G, Steffensen I-L, Tlustos C, van Loveren H, Vernis L, Zorn H, Liu Y and Chesson A, 2021b. Statement on the process-specific technical data used in exposure assessment of food enzymes. EFSA Journal 2021;19(12):7010, 38 pp.

Amber Green White

гр. София, 1618, бул. "Цар Борис III" № 136
<https://corhv.government.bg>, corhv@mzh.government.bg
тел. 02/ 427 30 56



условия на употреба. Панелът CEP счита TOS на ензима за свободен от жизнеспособни клетки на производствения организъм и от рекомбинантна ДНК.

Източник:

EFSA Panel on Food Contact Materials, Enzymes and Processing Aids (CEP). Safety evaluation of the food enzyme mannan endo-1,4- β -mannosidase from genetically modified strain *Trichoderma reesei* RF6232 <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2022.7478>

Изготвил:

инж. Светлин Стефанов, младши експерт, Дирекция ОРХВ, ЦОРХВ
05.10.2022 г.

Amber Green White

гр. София, 1618, бул. "Цар Борис III" № 136
<https://corhv.government.bg>, corhv@mzh.government.bg
тел. 02/ 427 30 56

