



**БЕЗОПАСНОСТ И ЕФИКАСНОСТ НА L-ТРЕОНИН, С ПРОДУЦЕНТ
ESCHERICHIA COLI CGMСС 13325, КАТО ФУРАЖНА ДОБАВКА ЗА
ВСИЧКИ ВИДОВЕ ЖИВОТНИ**

РЕЗЮМЕ

По искане от Европейската комисия, Панелът по добавки и продукти или субстанции за употреба при хранене на животни (FEEDAP) е изготвил научно становище за L-треонин: субстанцията е получена чрез ферментация; предназначена е за употреба във фуража и във водата за пиене за всички видове и категории животни.

Продуктът, който се оценява, е L-треонин, продуциран от **генетично модифициран шам на *E. coli* CGMСС 13325**. Панелът отбелязва, че 3 от 5 партии от добавката не отговарят на минималното съдържание според спецификацията – 98.5% L-треонин, изчислено на база сухо вещество, както е предложил заявителя. Продуцираният шам и неговата ДНК не са открити в крайния продукт. Следователно, крайният продукт не поражда опасения за безопасността по отношение на генетичната модификация на продуцирания шам. L-Треонин, обект на тази оценка се допълва към фуражи с цел повишаване на хранителната им стойност, компенсира дефицита на треонин във фуража и е безопасен за целевите видове.

Панелът FEEDAP е идентифицирал рискове от **хранителен дисбаланс и хигиенни проблеми**, когато аминокиселини се прилагат едновременно във фуража и във вода за пиене.

Употребата на L-треонин, обект на това становище, се приема като безопасен за консуматорите и за околната среда.

Съществува риск от инхалационна експозиция на ендотоксини при лица, които работят с добавката.

Поради липса на данни, панелът FEEDAP **не може да направи заключение** относно потенциала на L-треонин, продуциран от *E. coli* CGMСС 13325, да причинява кожни раздразнения или да дразни очите или да оказва сенсibiliзиращо действие на кожата. Изследваната добавка се смята за ефективен източник на аминокиселината L-треонин за всички видове непреживни животни. С цел допълнението към фуража L-треонин да бъде ефикасен при преживните животни, колкото и при непреживни, той се нуждае от защита срещу разграждане в румена.

ВЪВЕДЕНИЕ

Предварителна информация и техническо задание

Регламент (ЕО) № 1831/2003¹ урежда правилата на Общността за разрешаване употребата на добавки при хранене на животни. По-специално, член 4, параграф 1 от посочения регламент предвижда всяко лице, което кандидатства за разрешение или за нова употреба на фуражна добавка, подава заявление в съответствие с член 7.

¹ Регламент (ЕО) № 1831/2003 на Европейския парламент и на Съвета от 22 септември 2003 г. относно добавките за използване при храненето на животните. ОВ L 268, 18.10.2003 г., стр. 29.

Субстанцията принадлежи към **категория:** хранителни добавки; **функционална група:** аминокиселини, техните соли и аналози.

Съгласно член 8 от Регламент (ЕО) № 1831/2003, EFSA изготвя научна оценка (оценка на безопасността на добавката за целеви видове животни, за консуматорите, потребителите и за околната среда) на фуражната добавка според условията, посочени в член 5.

Допълнителна информация

L-Треонинът, произведен от няколко щамове на *Escherichia coli* (минимално съдържание от 98% на база сухо вещество (DM – Dry Matter)), понастоящем е **разрешен като хранителна добавка за фуражи** за употреба при всички видове животни, но добавка, продуцирана от генетично модифицирания организъм, обект на това становище, не е била разрешавана досега в Европейския съюз (ЕС). L-Треонинът е **разрешен за употреба в храни**², **козметични продукти**³ и като **ветеринарномедицински продукт**⁴ и е описан в монография на Европейската фармакопея (MG 01/2017: 1049) (Европейска фармакопея, 10-то издание, [2019](#)).

Научният Панел FEEDAP е публикувал следните становища за безопасност и ефикасност на L-треонин, продуциран от генетично модифицирани щамове на *E. Coli*: (EFSA FEEDAP Panel, [2013](#), [2014a,b,c,d](#), [2015a,b](#), [2016a,b](#), [2017a](#), [2018a](#), [2019c](#)) или *Corynebacterium glutamicum* (EFSA FEEDAP Panel, [2019a,b](#)).

Съвместният експертен комитет по хранителни добавки на ФАО / СЗО е **оценил L-треонин като ароматизатор на храни** (JECFA; СЗО, 2012).

Данни и методология

Данни

Данните, които Панелът FEEDAP използва са предоставените от заявителя и данни от други източници: предходни оценки на риска от EFSA или други експертни органи, рецензирани научни трудове, други научни доклади и знания на експертите, с оглед да предостави настоящия резултат. Взет е предвид докладът⁵ на Европейската референтна лаборатория (EURL), който се отнася до методите за контрол на L-треонин, произведен с *E. coli* CGMCC 13325 във фуражи.

Методология

Подходът, следван от Панела FEEDAP е в съответствие с принципите, заложи в Регламент (ЕО) № 429/2008⁶ и съответните документи с насоки:

² Regulation (EU) No 609/2013 of the European Parliament and of the Council of 12 June 2013 on food intended for infants and young children, food for special medical purposes, and total diet replacement for weight control and repealing Council Directive 92/52/EEC, Commission Directives 96/8/EC, 1999/21/EC, 2006/125/EC and 2006/141/EC, Directive 2009/39/EC of the European Parliament and of the Council and Commission Regulations (EC) No 41/2009 and (EC) No 953/2009, OJ L 181, 29.6.2013, p. 35.

³ Commission Decision of 9 February 2006 amending Decision 96/335/EC establishing an inventory and a common nomenclature of ingredients employed in cosmetic products. OJ L 97, 5.4.2006, pp. 1–528.

⁴ Commission Regulation (EU) No 37/2010 of 22 December 2009 on pharmacologically active substances and their classification regarding maximum residue limits in foodstuffs of animal origin. OJ L 15, 20.1.2010, p. 1. Commission Regulation (EU) No 37/2010 of 22 December 2009 on pharmacologically active substances and their classification regarding maximum residue limits in foodstuffs of animal origin. OJ L 15, 20.1.2010, p. 1.

⁵ Резюме на доклада е достъпно в приложение А.

⁶ Регламент (ЕО) № 429/2008 на Комисията от 25 април 2008 г. относно подробни правила за прилагане на Регламент (ЕО) № 1831/2003 на Европейския парламент и на Съвета по отношение на подготовката

Ръководство за проучвания относно безопасността на употребата на добавката за потребители / работници (EFSA FEEDAP Panel, [2012](#)), **Ръководство** за идентичност, характеризирането и условия за употреба на фуражни добавки (EFSA FEEDAP Panel, [2017b](#)), **Ръководство** за характеризиране на микроорганизми, използвани като фуражни добавки или като продуциращи организми (EFSA FEEDAP Panel, [2018b](#)), **Ръководство** за оценка на безопасността на фуражните добавки за целевите видове (EFSA FEEDAP Panel, [2017c](#)), **Ръководство** за оценка на безопасността на фуражните добавки за потребителя (Панел на EFSA FEEDAP, [2017d](#)), **Ръководство** за оценка на ефикасността на фуражните добавки (EFSA FEEDAP Panel, [2018c](#)) и **Ръководство** за оценка на безопасността на фуражните добавки за околната среда (EFSA FEEDAP Panel, [2019d](#)).

ОЦЕНКА

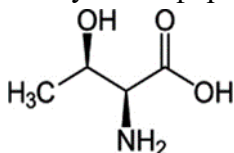
Характеризиране на продуциращия организъм

Генетично модифицираният организъм, който е продуцент на оценявания L-треонин е депозиран в Китайския център за депозиране на общи микробиологични култури (CGMCC), с номер CGMCC 13325⁷. Идентичността на организма е потвърдена чрез биоинформационен анализ на пълния геном на организма, изследван чрез пълна геномна секвенция (WGS) на продуциращия щам. Щамът е характеризиран като безопасен (непатогенен); всички минимални инхибиторни концентрации са били под горната граница (определени според приложимото ръководство), щамът се приема за чувствителен на антибактериални продукти; фактът че фенотипно не е устойчив на тестваните антибиотици, показва че продуциращият щам не носи проблемни придобити гени за резистентност; анализ е бил направен и за гени, които определят наличие на токсини и вирулентност.

Производствен процес – L-треонин се произвежда в резултат на ферментативен процес, в резултат на размножаване на *E. coli* CGMCC 13325.

Характеризиране на активната субстанция

L-Треонин (Международен съюз за чиста и приложна химия (IUPAC) име: (2S, 3R) -2-амино-3-хидроксипутанова киселина; синоними: 2-амино-3-хидроксимаслена киселина, α -амино- β -хидроксимаслена киселина), съединение, идентификационен № 72-19-5 по (CAS – Chemical Abstracts Service); Европейски опис на съществуващи търговски химични субстанции (EINECS) № 200-774-1; има молекулна маса 19,12 g/mol; Молекулната формула на L-треонин е C₄H₉NO₃. Структурна формула:



По спецификация, добавката следва да съдържа $\geq 98,5\%$ L-треонин на база DM и $<1\%$ влага. Анализите на пет партии показват средно 98,3% треонин (диапазон

и представянето на заявленията и оценката и разрешение за фуражни добавки. ОВ L 133, 22.5.2008 г., стр. 1.

⁷ Техническо досие / Раздел II / Приложения Раздел II / Приложение 2.2.1.2а и Допълнителна информация юли 2020 г. / Приложение 1.

97,9–98,7%), загубата при сушене е средно 0,06% (диапазон 0–0,1%): спецификацията не е постигната при три от пет анализирани партии.

Количеството неидентифициран материал е > 1%.

Специфичното оптично въртене е измерено в три партии от крайния продукт и варира от $-27,7$ до $-27,8$ °, което е в границите, установени за L-треонин в Европейската фармакопея ($-27,6$ до $-29,0$ °) и показва идентичност с L-енантиомера.

Онечиствания

Били са анализирани три партии за нежелани субстанции:

- кадмий, живак и арсен: всички аналитични стойности са под съответните граници на откриване (LOD), с **изключение на оловото**, което варира от по-ниско LOD до 0,02 mg / kg;

- микотоксини: охратоксин А, зеараленон, фумонизини (сума от В1, В2 и В3), дезоксиниваленон и цитринин – под LOD, но **нивата на афлатоксини (неуточнени) варираха от под LOD до 0,7 µg / kg**;

- диоксини: (полихлорирани дибензофурани (PCDF), полихлорирани дибензо (p) диоксини (PCDD)) и диоксиноподобни полихлорирани бифенили (DL-PCB) са измерени в три партии от крайния продукт: под съответните граници на количествено определяне (LOQ). Нивата на PCDD / F и сумата на PCDD / F и DL-PCB (горна граница) са изчислени на $<0,137$ ng WHO-TEQ / kg и $0,269$ ng WHO-TEQ / kg, съответно във всички партии;

- микробиологично качество: тествано чрез преброяване на *Salmonella spp.* (в проби от 25 g), *Enterobacteriaceae*, *E. coli* и дрожди: не се откриват;

- ендотоксинната активност в три партии: установена $<30\ 000$ IU / g във всички партии;

- наличие на жизнеспособни клетки от продуциращия щам в крайния продукт в три партии: не се откриват;

- наличие на ДНК от продуциращия щам в три партии: не се открива.

Физични характеристики

Добавката е твърд прах, с плътност 600–800 kg / m³, разтворимост във вода при 25 ° C е 205 g / L. Потенциал за разпрашаване (изследвани – три партии) на крайния продукт (метод на Stauber – Neubach) варира от 1700 до 2000 mg / m³. Разпределението на размера на частиците на крайния продукт (три партии) се анализира чрез лазерна дифракция. Фракциите на частиците с диаметър <100 , <50 и <10 µm варират съответно 63–65%, 34–39% и 3–7% (v / v).

Стабилност и хомогенност⁸

Срокът на годност на добавката е изследван в запечатани торбички, защитени от светлина при 25°C в продължение на 12 месеца и при 40°C в продължение на 6 месеца. Загубите в края на периода на съхранение варират от 1% до 6% при 25 ° C и от 1% до 2% при 40 ° C.

Изследвана е стабилността на добавката (три партии) **във витаминно-минерална премикс при добавяне на 4%**. Пробите се съхраняват в запечатани

⁸ Падрабности може да бъдат намерени в оригинала.

пластмасови торбички, защитени от светлина, при стайна температура в продължение на 6 месеца. **Не са наблюдавани загуби.**

Изследвана е стабилността на добавката (три партиди) **в пълноценно хранене (каша и гранули) при добавяне при 0,2%**. Не са наблюдавани загуби в каша или гранулирани пълноценни фуражи.

Изследвана е стабилността на добавката (три порции) **във вода за пиене при добавяне на 0,2%**. Пробите се съхраняват при стайна температура в продължение на 48 часа: не са наблюдавани загуби.

Капацитетът на добавката да разпределя хомогенно във фуража е изследван в 10 подпроби от гранулирания фураж, описан по-горе. Коефициентът на вариация е 3%.

Условия за употреба

Предлага се L-треонинът да се влага във фуражи за всички видове животни, чрез което да се постигне адекватен аминокиселинен профил и да се отговори на нуждите от L-треонин. Може да се приложи чрез премикс и във водата за пиене. Не е предложена норма на влагане, тъй като количеството зависи от вида, физиологичното състояние на животното, натоварването, условията на околната среда, приемът на вода и аминокиселинния състав на диета, в която не са включени добавки.

БЕЗОПАСНОСТ

Безопасност на продуциращия микроорганизъм

Генетично модифицираният продуциращ щам *E. coli* CGMCC 13325 продуцира по-голямо количество L-треонин; липсват проблеми с безопасността; щамът не носи придобити гени на антимикуробна резистентност; самият щам и негова ДНК щам не се откриват в крайната добавка. Следователно, **крайният продукт не поражда никакви опасения за безопасността по отношение на генетичната модификация на продуцирания щам.**

Безопасност за целевите видове, консуматорите и околната среда

Изискванията към L-треонин от целевите животински видове и безопасността на тази незаменима аминокиселина при храненето на непрехватни и прехватни животни са били обобщени в предишни становища на панела на EFSA FEEDAP (2013, 2015a).

Добавката е пречистена (>98% L-треонин на база DM); активността на ендотоксини, в резултат от прибавяне чрез добавката, при перорален прием, няма потенциал да окаже влияние, при сравнение с фоновите концентрации във фуража.

Притесненията относно употребата на добавката произтича по-скоро от остатъци от процеса на ферментация / производствен щам, останали в крайния продукт, но опасенията са неоснователни, за което има доказана ниска стойност на онечиствания, липса на ДНК на продуцирания щам и на микробни клетки, а не толкова от самата субстанция L-треонин. Щамът е податлив на антимикуробни средства, не са намерени придобити гени за резистентност.

Панелът FEEDAP препоръчва, аминокиселини, техни соли и аналози да не се употребяват във вода за пиене, поради риск от дисбаланс и по хигиенни причини (EFSA FEEDAP Panel, 2010).

Абсорбцията и метаболизмът на L-треонин в организма, включването на субстанцията в тъканните протеини не предполагат проблем с безопасността за консуматорите. Всеки потенциален излишък се метаболизира и екскретира.

Продуциращият щам, обект на становището, е безопасен и за околната среда.

ЗАКЛЮЧЕНИЯ относно безопасността на целевите видове, потребителите и околната среда

Употребата на L-треонин, произведен с използване на *E. coli* CGMCC 13325 за допълване във фуражи е безопасна за целевите видове. **Панелът FEEDAP има опасения относно безопасността на едновременното перорално приложение на L-треонин чрез вода за пиене и фуражи поради възможен аминокиселинен дисбаланс.**

Използването на L-треонин, получен чрез ферментация с използване на *E. coli* CGMCC 13325 при храненето на животните, се счита за безопасно за потребителите и за околната среда.

Безопасност за потребителя

Не са предоставени проучвания от заявителя в подкрепа на безопасността на L-треонин, произведен с помощта на *E. coli* CGMCC 13325 за потребители и работници.

Безопасност за дихателната система

Добавката има потенциал за разпръскване до 2000 mg / m³: разпределението на размера на частиците показва дял до 65% на частици с диаметър под 100 µm. По този начин **потребителите** (работниците) може да бъдат изложени при вдишване.

Активността на **бактериалния ендотоксин** (анализ на три партиди) е <30 000 IU/g⁹. Направени са изчисления за потенциален риск при вдишване поради експозиция на ендотоксини при потребителите и е направено **заключени, че съществува риск от излагане на вдишване на ендотоксини за потребители.**

При липса на данни, панелът FEEDAP **не може да направи заключение** относно потенциала на L-треонин, произведен с помощта на *E. coli* CGMCC 13325, да бъде дразнител на кожата или очите или сенсibiliзатор на кожата.

ЕФИКАСНОСТ

Не се изискват проучвания за ефективност на аминокиселини, тъй като те са нормално налични в растения и животни. Хранителната стойност на L-треонин е добре установена в научната литература: продуктът *L-treonine*, *технически чист*, се счита за ефективен източник на аминокиселината L-треонин.

⁹ Прагът за количеството вдишани ендотоксини на работа ден е 900 IU, получени от временните граници на професионална експозиция, дадени от холандския Експертен комитет по трудова безопасност (Здравен съвет на Холандия, 2010 г.) и британския изпълнителен директор по здраве и безопасност (HSE, 2013 г.)

Ефикасността на L-треонин както за непрехивни, така и за прехивни видове е описана в предишни становища (EFSA FEEDAP Panel, [2013](#), [2014a](#)). Допълнителният L-треонин се разгражда от микробиотата на прехивните животни, поради което следва да се влага след протекция.

Наблюдение след пускане на пазара

Панелът на FEEDAP счита, че **не е необходимо въвеждане на специфични изисквания за мониторинг** след пускане на пазара, различни от установените в Регламента за хигиена на фуражите и Добрата производствена практика.

Заклучения

1. Панелът отбелязва, че три от пет партии добавка не отговарят на минималната спецификация (предложено от заявителя) от 98.5% L-треонин на база DM. Продуциращият щам и неговата ДНК не са открити в крайния продукт. Следователно, **крайният продукт не поражда опасения за безопасността по отношение на генетичната модификация на продуциращия щам.**

2. Употребата на L-треонин, с продуцент *E. coli* CGMCC 13325 за допълване на пълноценността на фуражи за компенсиране на дефицит на треонин при хранене на животни, е безопасна за целевите видове. **Панелът FEEDAP идентифицира рискове от хранителен дисбаланс и хигиенни проблеми за аминокиселините, когато се прилагат едновременно във фуражи и във вода за пиене.**

3. Употребата на L-треонин, получен чрез ферментация с използване на *E. coli* CGMCC 13325 при храненето на животните, се счита за **безопасна за консуматорите и за околната среда.**

4. **Съществува риск от излагане на вдишване на ендотоксини за лица, които работят с добавката.**

5. При липса на данни, панелът на FEEDAP не може да направи заключение относно потенциала на L-треонин, произведен от *E. coli* CGMCC 13325, да окаже дразнещо действие на кожата или очите, или да сенсibiliза кожата.

6. Изследваната добавка се счита за ефективен източник на аминокиселината L-треонин за всички непрехивни животни. За да може допълнителният L-треонин да бъде толкова ефикасен при прехивните животни, колкото при не-прехивните видове, той изисква защита срещу разграждане в червея.

Източник:

<https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2903/j.efsa.2020.6332>

<https://doi.org/10.2903/j.efsa.2020.6332>

Изготвил:

Д-р Марина Загорова

Център за оценка на риска по хранителната верига.

Други материали, които касаят безопасност по хранителната верига, са достъпни на електронен адрес: <http://corhv.government.bg>