



## НАУЧНО СТАНОВИЩЕ НА ЕВРОПЕЙСКИЯ ОРГАН ПО БЕЗОПАСНОСТ НА ХРАНИТЕ - EFSA

### БЕЗОПАСНОСТ И ЕФИКАСНОСТ НА *L-CYSTINE*, КАТО ФУРАЖНА ДОБАВКА ЗА ВСИЧКИ ВИДОВЕ ЖИВОТНИ

#### РЕЗЮМЕ

Във връзка с искане от Европейската комисия, панелът *FEEDAP* (за добавки и продукти или субстанции за употреба във фуражи) на *EFSA* (Европейски орган по безопасност на храните) е изготвил научно становище относно безопасност и ефикасност на *L-cystine*, продуциран от генетично модифицирания микроорганизъм (*GMMO*) *Pantoea ananatis strain NITE BP-02525*. Продуктът е получен в резултат на ферментация. Заявление за разрешаването му за употреба като фуражна добавка за всички видове животни е подадено от *Ajinomoto Animal Nutrition Europe*.

Съгласно принципите за категоризиране на фуражни добавки, субстанцията *L-cystine* принадлежи към:

1. **Категория:** хранителни добавки; **функционална група:** аминокиселини, техните соли и аналози; и към
2. **Категория:** сензорни добавки; **функционална група:** ароматизиращи съединения.

Заявителят предлага добавката да бъде прилагана чрез влагане във фураж или чрез водата за пиене на животните.

В техническото досие, заявителят не посочва максимално препоръчително количество за влагане на *L-cystine* във фуражи или вода, когато се касае за употреба на аминокиселината като хранителна фуражна добавка, тъй като количеството на влагане на следва да бъде балансирано спрямо съдържанието на другите сярсъдържащи аминокиселини в дажбата на животните. При това трябва да бъдат отчетени специфични особености на вида животни за които е предназначен фуражът, възрастта и физиологичното им състояние.

Затова, количество на влагане е определено за същата добавка, но в качеството ѝ на **овкусяващ агент**: препоръчителни концентрации: **25 mg/kg пълноценен фураж**. Тази концентрация е значително по-ниска от тази, която би задовредила хранителните потребности на животните, поради което не са поставени условия за балансиране на дажбата спрямо останалите компоненти в нея. *L-Cystine* е чувствителен на условията на средата в сложния стомах на преживни животни. Поради това, с оглед достигане степен на ефикасност, каквато субстанцията притежава при непреживни животни, се изисква специална защита на субстанцията, поради това че условията на средата в сложния стомах на преживните животни води до промени в структурата на добавката и я прави неефикасна.

Употребата на субстанцията, е обект на оценката, не води до нарушаване на безопасността на продукти от животнски произход, добити от животни, в чийто фураж е вложена.

Фуружната добавка не представлява риск за хора, които работят с нея: притежава слабо дразнещо действие при вдишване, не дразни кожата и очите, не е кожен сенсibiliзатор; няма риск хора, които работят с добавката да бъдат експонирани на ендотоксини чрез вдишване. Употребата на добавката не представлява риск за околната среда.

Съединението се счита за ефикасно като ароматизиращ агент, когато е приложено според условията на употреба, посочени от заявителя.

## ТЕХНИЧЕСКО ЗАДАНИЕ

Заявлението за разрешаване на субстанцията като фуражна добавка е подадено по процедурата предвидена в член 4, параграф 1 във връзка с член 7 от Регламент (ЕО) № 1831/2003<sup>1</sup>.

Продукт с идентични на заявения продукт характеристики не е бил разрешаван като фуражна добавка в рамките на Европейския съюз досега. Съществуват разрешени за употреба подобни продукти, но източникът или продуцентът на субстанцията е бил различен от посочения в техническото досие на продукта, който е обект на тази оценка.

## ДАНИИ И МЕТОДОЛОГИЯ

В документацията на продукта, заявителят посочва, че предложението от него *L-cystine* се продуцира от генетично модифициран щам на *P. ananatis* (NITE BP-02525). При извършване на оценката, EFSA е взел предвид предоставените от заявителя данни, предходни свои оценки на подобни продукти, както и научни данни и доклади, които са съотносими към оценявания продукт. Взет е предвид и докладът на Референтната лаборатория на Европейския съюз (EURL), който разглежда лабораторните методи за контрол на субстанцията, подлежаща на оценка.

Подходът, следван от панела FEEDAP при оценка на безопасността и ефикасността на *L-cystine* е в съответствие с принципите, установени в Регламент (ЕО) № 429 / 2008<sup>2</sup> и следващите ръководства:

- Ръководство за проучвания относно безопасността на употребата на добавката за потребители / работници (панел на EFSA FEEDAP Panel, [2012](#));
- Ръководство за идентичността, характеристиката и условията за използване на фуражните добавки (EFSA FEEDAP Panel, [2017a](#));
- Ръководство за характеристиката на микроорганизмите, използвани като фуражни добавки или като производствени организми (панел на EFSA FEEDAP, [2018a](#));

<sup>1</sup> Регламент (ЕО) № 1831/2003 на Европейския парламент и на Съвета от 22 септември 2003 година относно добавки за използване при храненето на животните (OJ L 268, 18.10.2003, р. 29)

<sup>2</sup> [РЕГЛАМЕНТ \(ЕО\) № 429/2008 НА КОМИСИЯТА от 25 април 2008 година относно подробни правила за прилагане на Регламент \(ЕО\) № 1831/2003 на Европейския парламент и на Съвета по отношение на подготовката и представянето на заявления и оценката и разрешаването на фуражни добавки \(3.11.2014г.\)](#)

- Ръководство за оценка на безопасността на фуражните добавки за целевите видове (EFSA FEEDAP Panel, [2017b](#));
- Ръководство за оценка на безопасността на фуражните добавки за потребителя (панел на EFSA FEEDAP, [2017c](#));
- Ръководство за оценка на ефикасността на фуражните добавки (панел на EFSA FEEDAP, [2018b](#)) и
- Ръководство за оценка на безопасността на фуражните добавки за среда (панел на EFSA FEEDAP, 2019).

## ОЦЕНКА

Оценката е извършена от гледна точка на изискванията към двете категории и функционални групи, в които субстанцията е класирана.

**Характеризиране:** продуциращият генетично модифициран щам е депозиран в Японския национален технологичен институт и е обозначен със сигнатура: *NITE BP-02525*. Родителският щам е идентифициран като *P. Ananatis*.

Чувствителността на продуциращия щам към антибиотици, изброени в ръководството за характеризирание на микроорганизми, когато се използват като фуражни добавки или като продуциращи организми принадлежащи към *Enterobacteriaceae*, се тестват по метода на микроразреждане на бульонна култура (EFSA FEEDAP Panel, 2018a). Цялата последователност на генома (WGS- *пълен геномен секвентен анализ*) на щамата е изследвана за наличие на гени за антимикробна резистентност (AMRs). Не са установени фактори, които обудлавят вирулентност. При изследванията на генома на производствения щам не е идентифициран токсигенен или патогенен фактор.

## Информация относно генетично модифицирания микроорганизъм

В техническото досие са представени доказателства за липса на цели гени за антимикробна резистентност в крайния продукт.

*L-Cystine* е димерна аминокиселина, синтезирана чрез окислителен процес от две цистеинови молекули, които се свързват чрез дисулфидна връзка.

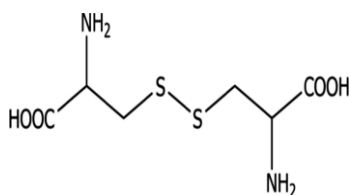
Международният съюз за чиста и приложна химия (IUPAC) е дал на *L-cystine* **наименованието:** (2R) –2 - амино-3 - [(2R) –2 - амино-2-карбоксиетил] дисулфанил] пропанова киселина.

Субстанцията *L-cystine* е с CAS номер: 56-89-3.

**Молекулна формула**  $C_6H_{12}N_2O_4S_2$

**Молекулна маса:** 240,3 g / mol

**Молекулна структура:**



По спецификация, заявеният съгласно техническото досие продукт има следните характеристики:  $\geq 98\%$  *L-cystine*; съдържание на **влага** (средна стойност изчислена на база 5 партиди): 0.02%; **пепел** (изчислена на база три партиди): 0.01–0.02%; определени като съставлящи продукта **елементи**: натрий и калций; специфично **оптично въртене**: средно  $-222.4^\circ$  при граници от  $-223$  to  $-222^\circ$ .

### Онечиствания

За определяне на онечиствания, са изследвани три партиди.

Измерват се тежки метали (кадмий, олово и живак), арсен, флуор, меламина и водороден цианид. Всички стойности са под границата на количествено определяне (LOQ). Стойности за диоксини (полихлорирани дибензо-*p*-диоксини и дибензофурани (PCDD/F) възлиза на 0,021 ng WHO-PCDD/F-TEQ/kg, а сумата от диоксини и диоксиноподобни полихлорирани бифенили (DL-PCBs) е 0,031 ng WHO-PCDD/F-DL-PCB-TEQ/kg. Non-DL - PCBs варира между 0,017 и 0,022  $\mu\text{g/kg}$ .

**Посочените стойности за количествено определяне на онечистванията, не представляват риск за безопасността на продукта.**

По отношение на **микотоксини**: (афлатоксини B1, B2, G1, G2, зеараленон, дезоксиниваленон, охратоксин A, T2 токсин, HT2 токсин, фумонизини B1, B2 и B3), концентрациите им в анализираните партиди са били под LOQ.

Тествано е **микробно замърсяване** на пет партиди от добавката. Общият брой на микроорганизми при 30°C, което включва определяне на предварително определения като най-вероятен в културите *Bacillus cereus* при 30°C са били <100 единици, (CFU единици, образуващи колония)/g, с изключение на една партида, която е имало  $\leq 400$  CFU/g; предполагаеми колиформи, *Enterobacteriaceae*, на *Staphylococcus* позитивен на коагулаза, дрожди и плесени са <10 CFU / g; *Salmonella spp.* отсъства в 25 g проби.

**Пестицидите** (органофосфорни, органохлорин и пиретроиди) са анализирани в три партиди и са открити под LOQ.

**Потенциалната антимикробна активност** на добавката е била тествана (три партиди) в съответствие с указанията за характеристика на микроорганизмите, използвани като фуражни добавки или като продуциращи организми (EFSA FEEDAP Panel, 2018a).

**Ендотоксиновата активност** е измерена в три партиди: не е била установена ендотоксинова активност в една от партидите, а за другите две партиди, активността е съответно 19 и 54 EU / g добавка.

**Не са открити жизнеспособни клетки на продуциращия щам, също е на рекомбинантна ДНК.**

### Физико-химични характеристики

Добавката е **бял кристален прах** с разтворимост във вода при 25°C 0,112%, pH (измерено в три партиди при разреждане с 0,01%, варира от 5,5 до 5,8. Степента на уплътвяване при съхранение варира от 864 до 944 kg/ m<sup>3</sup>.

**Потенциалът за разпрасяване** е измерен по метода на Стаубер-Хебах, в три партии: стойностите варират от 0,55 до 0,88 g/m<sup>3</sup>.

#### **Стабилност и хомогенност:**

Срокът на годност на добавката (определен на база три партии) е тестван, при съхранение в запечатани найлон-полиетиленови торби при 25 и 40 ° C в продължение на 1 година. Наблюдаваните загуби варират от 1 до 5% при 25 ° C и от 2 до 4% при 40 ° C.

#### **Условия на употреба**

Заявлението е подадено за употреба на субстанцията като **„хранителна“ фуражна добавка** за животни, за влагане в премикси, пълноценни фуражи, допълващи фуражи и вода за пиене на всички видове животни. В качеството си на аминокиселина, за добавката не са определени препоръчителни количества за влагане във фуражи. Оптималният толеранс за количество, което да се вложи, зависи от вида животни, физиологичното им състояние, продуктивността на животните и условията на средата, както и от аминокиселинния състав на фуражите, преди към тях да са прибавени фуражни добавки. По тези причини заявителят не е определил препоръчителна доза на добавката в качеството ѝ на хранителна добавка.

Препоръчителна концентрация за влагане на добавката като **овкусяващ агент: 25 mg/kg пълноценен фураж**).

#### **БЕЗОПАСНОСТ**

Продуктът е оценен като безопасен по отношение на генетичната модификация на продуциращия щам, тъй като не проявява патогенност. В готовия продукт не са налични гени останали в резултат на генетична модификация и обуславящи антимикробна резистентност, поради недобро пречистване на продукта. В субстанцията *L-cystine* отсъства продуциращият щам или негов ДНК.

#### **Безопасност за целеви животни, консуматори и околна среда**

- метаболизмът на *L-cystine*, потенциалните неблагоприятни ефекти в резултат на излишък на субстанцията в диетите на **целеви животни**, както поносимостта към цистин съпоставена с метионин и относителната му токсичност в сравнение с цистеин, са оценени в предходно становище (панел на *EFSA FEEDAP*, [2013a,b](#));

- по преценка на *FEEDAP*, съставът на животинските тъкани и продуктите от животински произход не се засяга при влагане на добавката, поради което е определена като **безопасна за консуматора**;

- *L-cystine* е физиологичен и естествен компонент на протеините в животни и растения; включените в тъканите/продуктите от животински произход количества от добавката в протеините се катаболизират и екскретират във вид на урея и пикочна киселина, сяра и въглероден диоксид; не се очаква това да увеличи концентрацията им в **околната среда**;

- когато продуктът се прилага с водата за пиене, а добавката е включена в пълноценен фураж, балансиран по отношение на аминокиселинния си състав, логично това нарушава азотния баланс, което се изразява с увеличено количество азот в

урината; когато това не се допусне, *L-cystine* не представлява риск за околната среда;

- потенциалът за разпрашаване на добавката при различните партии варира, но независимо от това, степента на разпрашаване предполага риск от **експозиция при вдишване**; опитите с плъхове са показали, че ефектите (микроскопични поражения и хеморагии) са преходни и изчезват до втория ден след експозицията;  $LD_{50}$  при остра експозиция е определена на  $> 5.3 \text{ mg/L (g/m}^3\text{)}$ ; за сравнение, при праг от  $900 \text{ IU}^3$  за вдишани ендотоксини за работен ден от 8 часа, експозицията на работник за работния ден при работа с *L-cystine* може да достигне едва 26 IU;

- опитите за определяне на **нежелани ефекти върху очите** са проведени *in vitro*; резултатът в резултат на опита индекс е показал „пълна липса на ефект“, при което не се изисква класифициране;

- **ефекти върху кожата** – резултатите са определени чрез *in vitro* опити; на база на изследване, предвидено в *OECD Guideline 439* е направен изводът, че субстанцията не дразни кожата;

- при опити, проведени съгласно *OECD Guideline 429* с *L-cystine* (99.9% чистота) при дози 25, 50, в 100% от случаите не са били наблюдавани признаци на дразнене, нито признаци на обща токсичност: **добавката не е кожен сенситизатор.**

## ЕФИКАСНОСТ

*L-Cystine* представлява природен продукт (намира се в растения и животни). Съдържа сяра, а за тази група аминокиселини, в научната литература се намира богата информация. В научно си становище (*EFSA FEEDAP Panel*, [2013a,b](#)) *EFSA* е оценил сравнителната токсичност на *methionine* и *cysteine*, поради което в настоящото становище подобна оценка не е извършвана.

*L-Cysteine* и продуктът на окисление на *L-cystine*, са в състояние да задоволят приблизително 50% от нуждите на организма от сярасъдържащи аминокиселини (SAAs). В зависимост от животинския вид, генетиката, пола и физиологичното състояние на животното, изискването за количество на SAA и на метионин във фуража според Националния научен съвет (NRC), варира между 0,35% и 0,85%, съответно от 0,15% и 0,40% . Тези данни биха послужили при изчисляване на количеството добавка, което следва да бъде вложено в дадено количество готов фураж, в случай че целта е влагане на добавката в качеството ѝ на хранителна фуражна добавка.

Като цяло, продуктът *L-cystine* се счита за ефикасен при всички видове животни, като при преживни животни се изисква да бъде защитен срещу разграждане в сложния им стомах.

*L-Cysteine* се използва във фуражи като ароматизиращо съединение (*FL* № 17.006), а приложението в храни е еднакво по същество с тази при фуражи, поради което *FEEDAP* е направил извод, че не е необходимо допълнително доказване на ефикасност при животни.

<sup>3</sup> Dutch Expert Committee on Occupational Safety (Health Council of the Netherlands, [2010](#)) and the UK Health and Safety Executive (HSE, [2013](#)).

## МОНИТОРИНГ СЛЕД ПУСКАНЕ НА ПАЗАРА

Експертната комисия *FEEDAP* е на мнение, че няма необходимост от добавяне на специфични изискванията за мониторинг към вече предвидените в Регламент (ЕО) № 183/2005, като при това задължително следва да се прилагат принципите на Добра производствена практика.

### Източник:

<https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.2903/j.efsa.2020.6020>

<https://doi.org/10.2903/j.efsa.2020.6020>

*Други материали в областта на фуражи, може да бъдат намерени на интернет страницата на ЦОРХВ: <http://corhv.government.bg/?cat=29>.*