



1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52

ZNANSTVENO MIŠLJENJE

Znanstveno mišljenje o mogućnosti korištenja biljke *Stevia rebaudiana* (Bertoni)

Radna skupina za donošenje znanstvenog mišljenja

(Zahtjev HAH - Z -2009 -6)

Usvojeno 08. srpnja 2010.

ČLANOVI RADNE SKUPINE

Nada Vahčić, Jasminka Papić, Hrvoje Fulgosi, Domagoj Šimić, Irena Colić-Barić, Danijela Stražanac

VANJSKI ČLANOVI

Bruno Novak

SAŽETAK

Steviol glikozidi su intenzivna sladila dobivena ekstrakcijom iz lišća biljke *Stevia rebaudiana* (Bertoni). Steviozid i rebaudiozid su od 40 do 300 puta slađi od saharoze.

Rezultati toksikoloških ispitivanja su pokazali da nisu genotoksični, kancerogeni, niti imaju bilo kakve štetne učinke na reproduktivni sustav ljudi ili na razvoj djeteta.

Za steviol glikozide utvrđen je prihvatljivi dnevni unos (ADI) od 4 mg / kg tjelesne mase dnevno. Međutim, ovaj ADI bi se mogao premašiti i kod odraslih i kod djece, ako bi se ta sladila koristila pri maksimalno predloženim količinama.

Radna skupina zaključila je kako je još uvijek nedovoljno čvrstih znanstvenih dokaza o sigurnoj upotrebi biljke *Stevia rebaudiana* (Bertoni) ili njezinog suhog lišća kao monodroge te je njezino korištenje moguće jedino u smjesi ostalih dozvoljenih biljnih vrsta u oblicima kako propisuje Pravilnik o dodacima prehrani (NN 148/08).

Predlaže se upotreba mješavina steviol glikozida, koje bi sadržavale ne manje od 95% čistog steviozida i/ili rebaudiozida A kao prehrambenog aditiva-sladila.

1 **SUMMARY**

2

3 Steviol glycosides are intense sweeteners extracted from the leaves of the stevia plant *Stevia*
4 *rebaudiana* (Bertoni). Stevioside and rebaudioside, range in sweetness from 40 to 300 times
5 sweeter than sucrose.

6 Toxicological testing showed that the substances are not genotoxic, nor carcinogenic, or
7 linked to any adverse effects on the reproductive human system or for the developing child.
8 For steviol glycosides set an Acceptable Daily Intake (ADI) of 4 mg per kg body weight per
9 day. However, this ADI could be exceeded by both adults and children if these sweeteners are
10 used at the maximum levels.

11 The Working Group concluded that it is still not enough scientific evidence regarding the safe
12 use of the plant *Stevia rebaudiana* (Bertoni) or its dried leaves as monodroge. Its use is only
13 possible in a mixture of other plant species allowed in the way as required by Regulation on
14 food supplements (Official Gazzete 148/08). The Working Group also proposes the use of
15 steviol glycoside mixture, which contains no less than 95% pure stevioside and / or
16 rebaudioside A as food-additives sweeteners.

17

18

19 **KLJUČNE RIJEČI**

20

21 *Stevia rebaudiana* (Bertoni), steviozidi, steviol, rebaudiozid A, suho lišće stevije, ekstrakti
22 stevije

23

24

25

26 **POZADINA SLUČAJA**

27

28 Hrvatska agencija za hranu zaprimila je 06.08.2009. god. od Ministarstva zdravstva i
29 socijalne skrbi, Uprave za sanitarnu inspekciju, zahtjev za davanjem znanstvenog mišljenja
30 "Mogućnost korištenja biljke *Stevia rebaudiana* (Bertoni) u hrani", Klasa: 541-01/09-01/34,
31 ur. broj: 1-09-1.

32 Zahtjev se temelji na zamolbi za mišljenjem o mogućnosti korištenja biljne vrste *Stevia*
33 *rebaudiana* (Bertoni) u hrani u Republici Hrvatskoj od strane tvrtke "Energetski dom", Petra
34 Preradovića 8 iz Samobora.

35 Temeljem tog zahtjeva, na 7. sjednici Znanstvenog vijeća Hrvatske agencije za hranu koja je
36 održana 19. listopada 2009. god. zaključeno je da će se obzirom na predmetni zahtjev,
37 formirati radna skupina koja će temeljem dostavljenih materijala, ali i ostalih raspoloživih
38 znanstvenih i stručnih publikacija, raspraviti postavljeni zahtjev te dostaviti traženo mišljenje
39 najkasnije u roku od 6 mjeseci od dana formiranja radne skupine. Radna skupina u gore
40 navedenom sastavu osnovana je na zajedničkoj sjednici Znanstvenog odbora za prehrambene
41 aditive, arome, pomoćne tvari u procesu proizvodnje i predmete koji dolaze u neposredan
42 dodir s hranom (5. sjednica) i Znanstvenog odbora za novu hranu i hranu za životinje koja
43 sadrži GMO (6. sjednica) održanoj u Osijeku 05.11.2009. god.

44 Za potrebu donošenja znanstvenog mišljenja održana su četiri sastanka radne skupine na
45 kojima je razmotren stav većine država članica EU te ostalih zemalja svijeta u kojima se
46 biljka *Stevia rebaudiana* (Bertoni) zakonito koristi. Također je raspravljano i o brojnim
47 znanstvenim studijama načinjenim na biljci, suhom lišću biljke, ekstraktima ili kemijskim
48 spojevima steviozidu ili rebaudiozidu A 95%-tne čistoće ili više. Uzeta su u obzir i sva
49 dosadašnja mišljenja Europske agencije za sigurnost hrane (EFSA) vezana bilo za biljku, bilo

1 za neke ekstrahirane i pročišćene čiste spojeve ove biljke. Uvidom u dokumentaciju
2 predloženu od strane tvrtke koja je zatražila mišljenje utvrđeno je kako se traži zapravo
3 mišljenje o mogućnosti uporabe triju proizvoda koji sadrže u sebi steviju kao sladilo, ali iz
4 dokumentacije se nije mogao vidjeti kemijski sastav odnosno deklaracija tih triju proizvoda.
5 Stoga se radna skupina odlučila dati svoje mišljenje o steviji, odnosno steviozidu i
6 rebaudiozidu A kao prehranbenim aditivima- sladilima.

9 ZAHVALE

11 Hrvatska agencija za hranu zahvaljuje svim članovima radne skupine na doprinosu u izradi
12 ovog znanstvenog mišljenja.

16 RASPRAVA

18 Steviozid je kao sladilo evaluiran od Znanstvenog odbora za hranu (SCF) tijekom 1984.,
19 1989. i 1999. godine. SCF je zaključio kako je upotreba steviozida "toksikološki
20 neprihvatljiva" zbog nedovoljno dostupnih podataka za procjenu njegove sigurnosti.

22 JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives) je procjenjivao sigurnost
23 steviol glikozida tijekom 2000., 2005., 2006., 2007. i 2009. godine i uspostavio ADI za
24 steviol glikozide (izraženo kao ekvivalent steviola) od 4 mg/kg tjelesne mase dnevno.

26 Znanstveni odbor za prehrambene aditive i hranjive tvari dodane hrani (ANS) Europske
27 agencije za sigurnost hrane evaluirao je studije provedene na životinjama vezano uz
28 metabolizam i toksikokinetiku, laboratorijske studije toksičnosti na životinjama, studije
29 genotoksičnosti *in vitro* i *in vivo* i studije na ljudima s jednostrukim ili ponovljenim
30 djelovanjem steviol glikozida.

32 Metaboličke studije sa steviol glikozidima kod životinja i ljudi pokazale su da se čisti steviol
33 glikozidi slabo apsorbiraju nakon oralne izloženosti, ali se uslijed mikroflore hidroliziraju u
34 debelom crijevu u steviol. Velika količina steviola se apsorbira, a ostatak se izlučuje stolicom.
35 U jetri se steviol konjugira s glukuronskom kiselinom i nastaje steviol glukuronid. Jedina
36 razlika je u tome što se glukuronid izlučuje uglavnom putem urina kod ljudi i putem žuči u
37 štakora. Derivati steviol glikozida se ne akumuliraju u tijelu. Osim steviol glukuronida,
38 nijedan drugi derivat ne može se detektirati u urinu ljudi oralno izloženih steviol glikozidima.

40 Rebaudiozid A i steviozid pokazuju sličnu farmakokinetiku u štakora. Kod ljudi, rebaudiozid
41 A i steviozid se također metaboliziraju i izlučuju sličnim putevima.

42 Stoga, Odbor smatra da su rezultati toksikoloških studija za steviozid ili rebaudiozid A
43 primjenjivi za procjenu sigurnosti steviol glikozida općenito.

45 U nekim studijama subkroničnosti i kancerogenosti, a također i u 2-generacijskoj studiji
46 reproduktivne toksičnosti, povećanje tjelesne mase bilo je niže kod tretiranih grupa u odnosu
47 na kontrolnu. U tim studijama zabilježeno je smanjenje utroška stočne hrane kao i njeno
48 smanjenje iskoristivosti. Odbor razmatra učinke na tjelesnu masu ne kao štetne ili kao
49 indikacije toksičnosti nego ih razmatra u smislu manje "ukusnosti" i manje nutritivne

1 vrijednosti stočne hrane koja sadrži steviol glikozid. Stoga se parametri tjelesne mase ne
2 smatraju kao prikladni temelji za uspostavu NOAEL-a ovih studija.

3
4 Sveukupno, steviozid i rebaudiozid A ne pokazuju dokaze o genotoksičnosti *in vitro* ili *in*
5 *vivo*. Iako jedan Comet-ov test pokazuje učinke indikativne za oštećenja DNA, Odbor smatra
6 da ta studija ne pruža nepobitan dokaz genotoksičnog potencijala steviozida zbog sumnje u
7 metodološkičnost i zbog činjenice da se u ranijim studijama na miševima koristeći steviozide
8 manje ili veće čistoće nisu pokazali slični rezultati. Odbor je zabilježio da steviol i neki od
9 njegovih oksidativnih derivata pokazuju jasne dokaze genotoksičnosti *in vitro*, osobito u
10 prisutnosti metaboličke aktivacije sustava. Međutim, studije oštećenja DNA i formiranja
11 mikronukleusa u štakora, miševa i hrčaka pokazale su da genotoksičnost steviola nije izražena
12 *in vivo* pri dozama do 8000 mg/kg tjelesne mase.

13 Obzirom da dostupni podaci o toksikokinetici ukazuju da slobodni steviol nije prisutan u
14 sistemskoj cirkulaciji kod ljudi ili je, u najgorem slučaju, prisutan u vrlo malim
15 (zanemarivim) količinama, sva zabrinutost uzrokovana *in vitro* genotoksičkim profilom
16 steviola je u potpunosti neutralizirana činjenicom da genotoksični potencijal steviola ne
17 postoji *in vivo*.

18
19 Rezultati toksikoloških ispitivanja ukazuju da steviol glikozidi nisu genotoksični,
20 kancerogeni, niti su povezani s bilo kojom reproduktivnom toksičnošću. U dvogodišnjoj
21 studiji kancerogenosti u štakora NOAEL 2,5% steviozida (95,6% čistoće) bio je jednak 967
22 mg steviozida / kg tjelesne mase / dan (što odgovara približno 388 mg ekvivalenta steviola /
23 kg tjelesne mase / dan).

24
25 Pojedinačne doze od 1000 mg steviol glikozida / osobi / dan (97% rebaudiozida A), što
26 odgovara oko 330 mg steviol ekvivalenta na dan, nisu utjecale na glukoza homeostazu i nisu
27 utjecale na krvni tlak osoba s normalnom tolerancijom glukoze ili tip-2 šećerne bolesti.
28 Također, ni ponovljeno korištenje kroz 16 tjedana 1000 mg rebaudiozida A / osobi / dan nije
29 promijenilo homeostazu glukoze kod osobe s tip-2 šećernom bolesti. Parametri krvnog tlaka
30 nisu bili značajno promijenjeni nakon oralnog unosa 1000 mg rebaudiozida A / osobi / dan
31 kroz 4 tjedna u osoba s normalnim i niskim sistoličkim krvnim tlakom. Ta dnevna doza
32 odgovara 16,6 mg rebaudiozida A / kg tjelesne mase za osobu težine 60 kg i oko 5,5 mg
33 steviol ekvivalenta / kg tjelesne mase / dan.

34 Raspoloživi podaci o reakcijama sličnim anafilaksiji kod djece s atopijskim ekcemom
35 uzrokovanih steviozidom, prema mišljenju Odbora, ne predstavljaju opasnost kod oralne
36 izloženosti steviol glikozidu koja bi uzrokovala anafilaksične reakcije. Rijetki *in vitro* i *in*
37 *vivo* podaci pokazuju da steviozid može imati imunostimulacijske i imunomodulacijske
38 učinke na upale. Odbor smatra da imunostimulacijski i imunomodulacijski učinci steviol
39 glikozida u staničnim linijama i kod glodavaca nisu bili snažni i nisu se mogli ponavljati te
40 zbog toga ne mogu poslužiti kao temelj studijama za procjenu rizika. Međutim, ti rezultati
41 zaslužuju dublja istraživanja jer, ako budu potvrđeni, mogu pobuditi sumnju u vezi korištenja
42 steviozida od strane pojedinih populacijskih podgrupa, osobito kod osoba s autoimunim
43 bolestima ili upalom gastrointestinalnog trakta.

44
45 Kad se razmatra predložena maksimalna količina korištenja (*Tier 2*), prosječna prehrambena
46 izloženost steviol glikozidu izražena u steviol ekvivalentima u djece u Europi (starosti 1-14
47 godina) je u rasponu od 0,7 do 7,2 mg/kg tjelesne mase / dan i od 3,3 do 17,2 mg/kg tjelesne
48 mase / dan 95-postotnog steviola. Glavni izvori (>10% u svim zemljama) u ukupnoj
49 očekivanoj izloženosti steviol glikozida, izraženog kao steviol ekvivalent, su bezalkoholna

1 pića (11 do 58%) i deserti, uključujući aromatizirane mliječne proizvode (14 do 17%).
2 Bomboni su uračunati sa 11% izloženosti u 2 zemlje. Isušene granule rajčice i pahuljice i
3 ušćereno voće i povrće uračunati su s 17 i 18% izloženosti u jednoj zemlji.

4
5 Prijavljene procjene za odraslu populaciju u UK prikazuju prosječnu izloženost steviol
6 glikozidu, izraženu kao steviol ekvivalent, od 2,2-2,7 mg/kg tjelesne mase / dan i 8,0-9,7
7 mg/kg tjelesne mase / dan za visoki stupanj izloženosti (97,5-postotni). Glavni izvori u
8 ukupnoj procijenjenoj izloženosti steviol glikozida izraženog kao steviol ekvivalent (>10%)
9 su bezalkoholna pića (37%), pivo, jabukovača i kruškovača (33%).

10
11 Nakon razmatranja svih podataka vezanih uz stabilnost, produkte razgradnje, metabolizam i
12 toksikologiju, Odbor je uspostavio ADI za steviol glikozide, izražen kao steviol ekvivalenti,
13 od 4 mg/kg tjelesne mase / dan na osnovi primjene faktora nesigurnosti 100 u odnosu na
14 NOAEL za steviozid od 967 mg steviozida/kg tjelesne mase / dan (što je oko 388 mg steviol
15 ekvivalenata /kg tjelesne mase / dan) iz dvogodišnje studije kancerogenosti na štakorima.

16
17 Konzervativna procjena izloženosti steviol glikozidima kako u odraslih tako i kod djece
18 ukazuje da će se pri maksimalno predloženim količinama za upotrebu ADI vrijednost
19 vjerojatno prekoračiti.

20

21

22 ZAKLJUČAK

23

24 Uzimajući u obzir:

25

26 - brojna znanstvena istraživanja vezana uz biljku *Stevia rebaudiana* (Bertoni), suho
27 lišće te biljke, kao i slatke ekstrakte stevije od kojih su najbolje istraženi steviozid i
28 rabaudiozid A

29 - mišljenja pojedinih zemalja članica EU nakon upita Hrvatske agencije za hranu o
30 njihovim stavovima prema biljci *Stevia rebaudiana* (Bertoni)

31 - sva mišljenja i komentare EFSA-e uključujući i zadnje mišljenje Odbora za
32 prehrambene aditive i hranjive tvari dodane hrani (ANS): “Znanstveno mišljenje o
33 sigurnosti steviol glikozida predloženog za korištenje kao prehrambenog aditiva”

34

35 radna skupina donosi sljedeće zaključke:

36

37 • Slijedom svih gore navedenih činjenica i znanstvenih spoznaja mišljenja smo da je još
38 uvijek nedovoljno čvrstih znanstvenih dokaza o sigurnoj uporabi biljke *Stevia*
39 *rebaudiana* (Bertoni) ili njezinog suhog lišća kao monodroge.

40 • Biljna vrsta *Stevia rebaudiana* (Bertoni) nalazi se na listi dozvoljenih biljnih vrsta u
41 Prilogu III Pravilnika o dodacima prehrani (NN 148/08) iz čega proizlaze i
42 mogućnosti njenog legalnog korištenja u smjesi ostalih dozvoljenih biljnih vrsta u
43 oblicima kako propisuje Pravilnik.

44 • Glede mišljenja o uporabi mješavina steviol glikozida, koje bi sadržavale ne manje od
45 95% čistog steviozida i/ili rabaudiozida A kao prehrambenog aditiva-sladila,
46 podržavamo znanstveno mišljenje EFSA-inog Odbora za prehrambene aditive i
47 hranjive tvari dodane hrani (ANS) prema kojemu takve mješavine nisu karcerogene,
48 genotoksične ili reproduktivno toksične uz napomenu da se ne uzimaju u količinama
49 većim od preporučene ADI vrijednosti za steviol glikozide.

1 **LITERATURA**

2

3 1. EFSA Scientific opinion on the safety of steviol glycosides for the proposed uses as a
4 food additive, EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food
5 (ANS), European Food Safety Authority (EFSA), Parma, Italy

6 <http://www.efsa.europa.eu/en/scdocs/doc/1537.pdf>

7 2. Opinion of the French Food Safety Agency on a new draft order on the use of
8 rebaudioside A, an extract of *Stevia rebaudiana*, as a food additive, 2009.

9 3. Pravilnik o dodacima prehrani, Narodne novine 148/08

10 4. Materijali dobiveni preko HAH Focal Point točke

11 5. Food and Chemical Toxicology 46, (2008) S1-S92

12 6. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez>

13