
Diacylglycerololie

Beoordeling van de veiligheid voor de consument, volgens de Europese verordening 258/97 betreffende nieuwe voedingsmiddelen en nieuwe voedselingredienten

Diacylglycerol oil

Assessment of safety for the consumer, in accordance with European Regulation 258/97 concerning novel foods and novel food ingredients





Aan de Minister van Volksgezondheid,
Welzijn en Sport

Onderwerp : aanbieding advies 'Diacylglycerololie'
Uw kenmerk : GZB/VVB 2276337
Ons kenmerk : 2002/07 VNV, U-1619/MR/cv/622-BX
Bijlagen : 5 exemplaren
Datum : 12 december 2002

Mijnheer de minister,

Hierbij bied ik u een advies aan in het kader van de door u mede namens de Minister van Landbouw, Natuurbeheer en Visserij aan de Gezondheidsraad voorgelegde adviesaanvraag over de veiligheid van nieuwe voedingsmiddelen en nieuwe voedsel ingrediënten. Het advies is een zogenoemde eerste beoordeling, conform de Europese verordening 258/97, van 'Diacylglycerololie'. Deze beoordeling is verricht door de Commissie 'Veiligheidsbeoordeling nieuwe voedingsmiddelen' van de Gezondheidsraad. Ik heb dit advies heden ook aangeboden aan de Minister van Landbouw, Natuurbeheer en Visserij.

Hoogachtend,

Prof. dr JGAJ Hautvast

Diacylglycerololie

Beoordeling van de veiligheid voor de consument, volgens de Europese verordening 258/97 betreffende nieuwe voedingsmiddelen en nieuwe voedsel ingrediënten

Gezondheidsraad:
Commissie Veiligheidsbeoordeling nieuwe voedingsmiddelen (VNV)

aan

de Minister van Volksgezondheid, Welzijn en Sport

de Minister van Landbouw, Natuurbeheer en Visserij

Nr 2002/07VNV, Den Haag, 12 december 2002

De Gezondheidsraad, ingesteld in 1902, is een adviesorgaan met als taak de regering en het parlement “voor te lichten over de stand der wetenschap ten aanzien van vraagstukken op het gebied van de volksgezondheid” (art. 21 Gezondheidswet).

De Gezondheidsraad ontvangt de meeste adviesaanvragen van de bewindslieden van Volksgezondheid, Welzijn & Sport; Volkshuisvesting, Ruimtelijke Ordening & Milieubeheer; Sociale Zaken & Werkgelegenheid en Landbouw, Natuurbeheer & Visserij. De Raad kan ook eigener beweging adviezen uitbrengen. Het gaat dan als regel om het signaleren van ontwikkelingen of trends die van belang kunnen zijn voor het overheidsbeleid.

De adviezen van de Gezondheidsraad zijn openbaar en worden in bijna alle gevallen opgesteld door multidisciplinair samengestelde commissies van -op persoonlijke titel benoemde- Nederlandse en soms buitenlandse deskundigen.

Deze publicatie kan als volgt worden aangehaald:

Gezondheidsraad: Commissie Veiligheidsbeoordeling nieuwe voedingsmiddelen.

Diacylglycerolie. Den Haag: Gezondheidsraad, 2002; publicatie nr. 2002/07VNV.

auteursrecht voorbehouden

Een openbare versie van dit advies is in te zien via de website van de
Gezondheidsraad: www.gr.nl.

Inhoud

Samenvatting en conclusies *9*

1 Inleiding *13*

2 Volledigheid en juistheid van het dossier *15*

2.1 Administratieve gegevens *15*

2.2 Algemene beschrijving van het voedingsmiddel *15*

2.3 Classificatie van het voedingsmiddel voor beoordeling *16*

2.4 Informatievergaring over het voedingsmiddel *16*

2.5 Beknopt overzicht door de aanvrager *17*

2.6 Overige beoordelingen *17*

2.7 Etiketteringsvoorstel van de aanvrager *17*

3 Interpretatie en evaluatie van de voorgelegde gegevens *19*

3.1 I Specificatie van het nieuwe voedingsmiddel (NV) *19*

3.2 II Effecten van het gevolgde productieprocédé op het NV *20*

3.3 III Achtergrondinformatie over het als bron voor het NV gebruikte organisme *22*

3.4 IX Verwachte opname en gebruiksfrequentie van het NV *22*

3.5 X Informatie op basis van eerdere blootstelling van de mens aan het NV of zijn bron *25*

3.6 XI Informatie over de voedingswaarde van het NV *28*

3.7 XII Microbiologische informatie over het NV *30*

3.8 XIII Toxicologische informatie over het NV *30*

Literatuur 35

Bijlagen 37

A De adviesaanvraag 39

B De commissie 41

C EU-procedure 43

D Samenvatting van het dossier 45

Engelse vertaling 51

Samenvatting en conclusies

De aanvrager Archer Daniels Midland Company (ADM) heeft een veiligheidsdossier samengesteld over ENOVA-olie. Deze nieuwe plantaardige olie bevat voornamelijk diacylglycerolen waardoor ze verschilt van traditionele oliën die uit triacylglycerolen bestaan. ENOVA-olie wordt gemaakt met behulp van een specifiek lipase-enzym van glycerol en vetzuren. Deze vetzuren zijn afkomstig van gangbare spijsoliën. Het dossier dat de aanvrager heeft voorgelegd aan de commissie Veiligheidsbeoordeling Nieuwe Voedingsmiddelen bevat voldoende (bio)chemische, voedingskundige en toxicologische informatie om de veiligheid van de olie te kunnen beoordelen.

De firma ADM vraagt toestemming om de ENOVA-olie als voedselingrediënt op de Europese markt te brengen. De nieuwe olie kan gebruikt worden als vervanging van de gebruikelijke vetten en oliën in verschillende soorten levensmiddelen. De categorieën die de aanvrager voorstelt zijn: smeerbare vetten, saladedressings, bakkerijproducten, yoghurt, gezondheidsrepen en gezondheidsdranken. Een andere toepassing die de aanvrager voorstelt is het gebruik thuis van ENOVA-olie als gewone spijsolie.

De commissie concludeert ten eerste dat de gegevens over de beoogde inneming beperkt onderbouwd zijn. De aanvrager verstrekt gegevens over de inneming van ENOVA-olie door zowel de Nederlandse als 'de Europese' consument. Dit betreft in beide gevallen alléén gemiddelde waarden. De commissie vindt een gemiddelde van de Europese inneming niet bruikbaar, gezien de verschillen in eetgewoontes tussen de landen. Aan de hand van de gegevens in het dossier heeft de commissie zelf een inschatting gemaakt van de totale dagelijkse inneming door de Nederlandse consument,

gebaseerd op de meest waarschijnlijke combinatie van de verschillende ENOVA-oliehoudende levensmiddelen. Dit zou neerkomen op ongeveer 28 gram per dag.

Diacylglycerolen zijn van nature aanwezig in dierlijke en plantaardige vetten. Ook het menselijk lichaam zelf produceert diacylglycerolen als omzettingsproduct van triacylglycerolen. Daarnaast worden deze verbindingen als emulgator al decennia lang toegevoegd aan allerlei levensmiddelen. De commissie stelt vast dat de dagelijks inneming van ENOVA-olie die de aanvrager voorstelt van dezelfde orde van grootte is als de gezamenlijke inneming van diacylglycerolen via natuurlijke vetten en toegevoegde emulgatoren. Ook zijn er de commissie vanuit de wetenschappelijke biomedische literatuur geen meldingen bekend dat diacylglycerolenconsumptie wordt geassocieerd met gezondheidsklachten.

De beschrijving van de vertering en het metabolisme van diacylglycerolen is in het dossier voldoende onderbouwd met wetenschappelijke gegevens van recente onderzoeken bij hoofdzakelijk ratten, maar ook bij mensen. De voorziening van essentiële vetzuren lijkt gewaarborgd, omdat de olie naast linolzuur ook α -linoleenzuur bevat. De commissie stemt in met de conclusie van de aanvrager dat de ENOVA-olie voedingskundig gezien gelijkwaardig is aan traditionele triacylglycerololiën. Ook vindt de commissie dat de aanvrager voldoende heeft aangetoond dat de consumptie van diacylglycerololie niet leidt tot gezondheidsklachten of andere nadelige effecten. Zij baseert dit op resultaten van mensgebonden onderzoeken die in het dossier zijn opgenomen. De commissie stelt vast dat bij gezonde vrijwilligers met een normaal lichaamsgewicht geen klinisch relevante, significante verschillen zijn gevonden na langdurige consumptie van ENOVA-olie in vergelijking met traditionele triacylglycerololie.

De commissie stelt het niveau van veilige blootstelling aan ENOVA-olie vast op maximaal 140 gram per 70 kilogram lichaamsgewicht per dag. Het dossier bevat voldoende toxicologische informatie over de ENOVA-olie om tot deze vaststelling te komen. De resultaten van een mutageniciteitstest *in vitro* zijn negatief. Er zijn geen nadelige effecten vastgesteld bij ratten die gedurende 1,5 jaar dagelijks voer aten dat 2,65 of 5,3% van de nieuwe olie bevatte. De commissie heeft de hoogste blootstelling in dit onderzoek berekend als het gemiddelde van mannelijke en vrouwelijke ratten, wat uitkomt op ongeveer 2 gram diacylglycerololie per kilogram lichaamsgewicht per dag. De commissie beschouwt dit als de NOAEL (*no observed adverse effect level*), omdat hierbij geen teststof gerelateerde effecten zijn waargenomen.

Op basis van het totaal aan gegevens concludeert de commissie dat de nieuwe olie veilig is voor menselijke consumptie. Hieronder volgt een samenvatting van de argumenten.

- Blootstelling aan diacylglycerolen is niet nieuw. De gemiddelde consument krijgt met de gewone voeding reeds een significante hoeveelheid diacylglycerolen binnen.

Bij de voorgestelde toepassing van ENOVA-olie zou de consumptie van diacylglycerolen zo'n twee tot vijf maal toenemen. Daarnaast is het zo dat de vetzuren, de belangrijkste componenten na hydrolyse van ENOVA-olie in het maagdarmkanaal, dezelfde zijn als die in gangbare spijsoliën.

- Onderzoek met vrijwilligers heeft aangetoond dat langdurige dagelijkse inneming van zo'n 40 gram diacylglyceroololie geen andere effecten op de gezondheid heeft dan vergelijkbare inneming van traditionele triacylglyceroliën.
- De veilige bovengrens voor mensen is vastgesteld op 140 gram diacylglyceroololie per 70 kilogram lichaamsgewicht per dag (2 g/kg/dag), gebaseerd op de resultaten van chronisch proefdieronderzoek.
- De commissie heeft de Nederlandse innemingsgegevens van totaal vet gebruikt om de hoogst mogelijke consumptie van ENOVA-olie af te leiden. Uit voedselconsumptiegegevens van TNO-Voeding blijkt dat de 90 percentiel van de totale vetinneming bij de bevolkingsgroep die de meeste energie verbruikt, namelijk mannen in de leeftijd van 19 tot 22 jaar, 161 gram is. Het is echter niet reëel te veronderstellen dat al het vet in ons voedsel door diacylglycerolen vervangen zou kunnen worden. De commissie acht het daarom niet waarschijnlijk dat de veilige bovengrens van inneming zal worden overschreden.

Inleiding

Op 17 april 2002 vroeg de minister van VWS het oordeel van de commissie Veiligheidsbeoordeling nieuwe voedingsmiddelen (VNV), hierna te noemen ‘de commissie’, over de veiligheid voor de consument van een diacylglycerololie genaamd ‘ENOVA-olie’. De vetzuren in deze nieuwe olie zijn afkomstig van gangbare spijsoliën maar de chemische structuur van de vetbestanddelen is anders dan die in traditionele oliën. De firma ADM heeft daarom toestemming voor marktintroductie gevraagd, volgens Verordening 258/97 van het Europese Parlement en de Raad inzake nieuwe voedingsmiddelen (bijlage C). Een van de redenen om de nieuwe olie op de markt te brengen is de veronderstelde gezondheidsbevorderende werking. De aanvrager noemt in dit verband hart- en vaatziekten, atherosclerose, overgewicht en diabetes. De commissie VNV merkt met nadruk op dat evaluatie van de veronderstelde gezondheidsbevorderende werking geen onderdeel is van deze veiligheidsbeoordeling.

De beoordelingsprocedure van de ENOVA-olie is als volgt verlopen. In juli 2002 besprak de commissie voor het eerst het dossier dat was opgesteld door de aanvrager, die hierin de veiligheid van het nieuwe product heeft geëvalueerd (ADM02). De commissie heeft op 25 juli 2002 de firma enkele vragen gesteld waarvan de belangrijkste betrekking hadden op a) het enzym dat in het productieproces wordt gebruikt, en b) de specificatie van de producten die in het proefdier- en mensgebonden onderzoek waren toegediend. Op 30 augustus 2002 heeft de aanvrager aanvullende informatie verstrekt (ADM02a). Na herhaald overleg met de aanvrager over een aantal onderdelen van het antwoord, heeft de commissie de beoordeling afgerond in haar bijeenkomst van november 2002. Dit advies is een weergave van haar bevindingen.

Volledigheid en juistheid van het dossier

2.1 Administratieve gegevens

De naam en het adres van de aanvrager zijn: ADM Kao LLC, 4666 Faries Parkway, Decatur, IL, 62526, USA. ADM (Archer Daniels Midland Company) is onderdeel van het samenwerkingsverband ADM Kao LLC, die de ENOVA olie produceert in de Verenigde Staten.

2.2 Algemene beschrijving van het voedingsmiddel

De ENOVA-olie wordt met behulp van enzymtechnologie gemaakt van gangbare spijsoliën en bestaat grotendeels uit diacylglycerolen (synoniem met diglyceriden). Hierin verschilt de nieuwe olie van traditionele plantaardige oliën, die voornamelijk uit triacylglycerolen (synoniem met triglyceriden) bestaan. De belangrijkste vetzuren in ENOVA-olie zijn oliezuur en linolzuur. Behalve dat de aanvrager het nieuwe product als gewone spijsolie op de markt wil brengen, is het ook zijn bedoeling dat levensmiddelenfabrikanten het zullen verwerken in verschillende eindproducten. De categorieën die de aanvrager daarvoor voorstelt zijn: smeerbare vetten en margarines, saladedressings (inclusief mayonaise), bakkerijproducten, yoghurt, gezondheidsrepen en gezondheidsdranken (zie Bijlage D).

2.3 Classificatie van het voedingsmiddel voor beoordeling

De aanvrager doet een classificatievoorstel als onderdeel van thema III”
“Achtergrondinformatie over de bron”. Het nieuwe product zou horen in klasse 1, subklasse 1.1, zoals beschreven in deel I van Aanbeveling 97/618 van de Europese Commissie (EG97a). Dit betekent dat het een eenvoudig mengsel is van chemische stoffen, afkomstig van niet-genetisch gemodificeerde bronnen, en dat deze bronnen binnen de Europese Gemeenschap al eerder voor de voeding gebruikt zijn.

De commissie is het eens met de aanvrager dat de nieuwe olie valt onder categorie e ‘voedingsmiddelen geïsoleerd uit planten’ van de nieuwe voedingsmiddelen verordening (EG97). De commissie is het niet eens met de indeling in subklasse 1.1. De aanvrager vermeldt namelijk dat uitgangsmateriaal van genetisch gemodificeerde bronnen niet wordt uitgesloten, gezien het aanbod van zaadoliën op de wereldmarkt. De commissie concludeert daarom dat de huidige indeling in klassen (EG97a) niet bruikbaar is voor het nieuwe product in kwestie, en verwijst voor meer informatie naar paragraaf 3.3.

2.4 Informatievergaring over het voedingsmiddel

De aanvrager heeft de informatie, die essentieel is voor de beoordeling van de geschiktheid voor de consumptie van het voedingsmiddel, gestructureerd volgens de thema’s die zijn voorgeschreven in Aanbeveling 97/618 van de Europese Commissie (EG97a).

- I Specificatie van het nieuwe voedingsmiddel (NV)
 - II Effecten van het gevolgde productieprocédé op het NV
 - III Achtergrondinformatie over het als bron voor het NV gebruikte organisme
 - IX Verwachte opname en gebruiksfrequentie van het NV
 - X Informatie op basis van eerdere blootstelling van de mens aan het NV of zijn bron
 - XI Informatie over de voedingswaarde van het NV
 - XII Microbiologische informatie over het NV
-

XIII Toxicologische informatie over het NV

De aanvrager bespreekt op overzichtelijke wijze elk van deze thema's, en verwijst voor de gebruikte gegevens naar bijlagen of wetenschappelijke artikelen. Het dossier bevat voldoende (bio)chemische, voedingskundige en toxicologische informatie om de veiligheid van het NV te kunnen beoordelen. Tevens heeft de commissie wetenschappelijke biomedische literatuur geraadpleegd.

2.5 Beknopt overzicht door de aanvrager

Het dossier bevat een beknopt overzicht dat aan de lidstaten is toegestuurd, conform artikel 6, lid 2 van de Europese Verordening (EG) 258/97 (EG97).

2.6 Overige beoordelingen

De Japanse overheid heeft in mei 1998 toestemming gegeven aan Kao Corporation om het nieuwe voedingsmiddel diacylglycerololie te verhandelen op de Japanse markt. De commerciële productnaam is 'Econa® oil'. Naast het gebruik als spijsolie wordt het verwerkt in margarine, saladedressing, tonijn in blik, enkele bakkerijproducten en kant-en-klare sauzen of kruidenmengsels voor *curry*.

De diacylglycerol olie van Kao Corporation is in december 2000 door de Food and Drug Administration in de Verenigde Staten (US FDA) erkent als veilig (*generally recognized as safe (GRAS)*). Het rapport van de Amerikaanse deskundigen, die de veiligheid van deze olie beoordeeld hebben, is als bijlage 15 in het onderhavige dossier meegeleverd. Dit betreft het door de aanvrager voorgestelde gebruik als spijsolie en als ingrediënt van margarineachtige producten. De gemeenschappelijke onderneming van ADM en KAO Corporation gaat de olie in de Verenigde Staten verhandelen onder de naam 'ENOVA™ oil'.

2.7 Etiketteringsvoorstel van de aanvrager

Etikettering dient in overeenstemming te zijn met Richtlijn 2000/13/EG (EG00) en artikel 8 van Verordening (EG) 258/97(EG97). Het etiketteringsvoorstel wordt in Nederland in het Regulier Overleg Warenwet besproken, en wordt dus niet beoordeeld in dit advies.

Interpretatie en evaluatie van de voorgelegde gegevens

3.1 I Specificatie van het nieuwe voedingsmiddel (NV)

ENOVA-olie bestaat grotendeels uit diacylglycerolen, met oliezuur en linolzuur als de belangrijkste vetzuren. De aanvrager specificeert zijn product als volgt:

- diacylglycerol >80%
- triacylglycerol <20%
- monoacylglycerol <5%
- onverzadigde vetzuren
 - oliezuur 20-65%
 - linolzuur 15-65%
 - α -linoleenzuur <15%
- verzadigde vetzuren (palmitinezuur en stearinezuur) <10%

Het merendeel van de diacylglycerolen (70%), de zogeheten 1,3 diacylglycerolen, heeft geen vetzuur veresterd aan het middelste koolstofatoom van de glycerolketen. De overige 30% bestaat uit 1,2 (of 2,3) diacylglycerolen. Daarnaast bevat het product kleine hoeveelheden antioxidanten <0,2% (ascorbyl palmitaat, tocoferolmengsel) en vrije vetzuren (<0,2%). Het fytosterolgehalte is maximaal 1,2%.

Het dossier bevat de fysische en chemische karakteristieken van de diacylglycerolie, maar geen beschrijving van de gebruikte methoden om de bestanddelen analyseren. De commissie gaat ervan uit dat hiervoor gevalideerde standaardtechnieken zijn gebruikt.

De commissie concludeert uit de verstrekte samenstellingsgegevens van vijf representatieve partijen dat er weinig variatie is over de productie jaren van 1998 tot 2000 (ADM02). Het gemiddelde linolzuur- en oliezuurgehalte van de in deze periode geproduceerde olie is respectievelijk 60% en 28% van het totaal aan vetzuren. Ook blijkt uit de gegevens van meer recente producties van februari en maart 2002 dat de olie meer linolzuur (46%) dan oliezuur bevat (37%) (ADM02a). De fractie verzadigde vetzuren, voornamelijk palmitinezuur en stearinezuur, is vrij consistent en bedraagt ongeveer 4% van het totaal aan vetzuren. Uit deze recente samenstellingsgegevens blijkt dat het erucazuurgehalte 0,02% van het totaal aan vetzuren is (ADM02a). De commissie vindt dit voldoende laag voor de toepassing van ENOVA-olie als spijsolie.

De commissie concludeert dat de productinformatie betrouwbaar weergeeft wat de samenstelling is van de te vermarkten ENOVA-olie en voldoende is om de veiligheid te kunnen beoordelen.

3.2 II Effecten van het gevolgde productieprocédé op het NV

Voor de productie van de nieuwe olie worden glycerol en uit spijsolie verkregen vetzuren gebruikt. Alle basisproducten zijn van levensmiddelenkwaliteit. De diacylglycerolen worden gesynthetiseerd met behulp van een specifiek 1,3 lipase. Dit enzym verestert de vetzuren stereospecifiek aan glycerol, zodat het middelste koolstofatoom (C2) onbezet blijft. Daarbij wordt geen onderscheid gemaakt tussen het eerste en derde koolstofatoom. De aanvrager vermeldt dat een dergelijke enzymatische esterificatie al sinds 1993 in de Europese levensmiddelenindustrie wordt toegepast. Het ruwe product wordt gezuiverd door achtereenvolgens destillatie, ontkleuring en verwijdering van ongewenste geurstoffen, waarna antioxidanten worden toegevoegd.

De aanvrager heeft in ENOVA-olie de afwezigheid aangetoond van een achttal zware metalen, waaronder lood, arseen en kwik. Hierbij werd een detectiegrens van 0,5 mg per kg gehanteerd.

Op verzoek van de commissie heeft de aanvrager uitgebreide informatie over het gebruikte enzym verstrekt (ADM02a). Die informatie is hieronder kort samengevat. Het enzym Lipozyme^{IM} wordt geïsoleerd uit de schimmel *Aspergillus oryzae*. Deze schimmel is hiervoor genetisch gemodificeerd door het gen dat in de schimmel *Rhizomucor miehei* codeert voor het lipase-enzym tot expressie te brengen. Omdat bij de productie van de diacylglycerolen het Lipozyme^{IM} vastzit aan een bepaalde drager (het is geïmmobiliseerd) bevat het eindproduct in principe geen lipase-enzym. Het gebruik van enzymen afkomstig van *Aspergillus oryzae* in de levensmiddelenindustrie dateert al van voor 1958. Er zijn geen ziekteverwekkende eigenschappen bekend van dit micro-organisme, dat door de US FDA als veilig wordt beschouwd. Lipozyme^{IM} is officieel goedgekeurd voor de bereiding van levensmiddelen door de Veterinary and Food

Administration in Denemarken en door het Canadese ministerie van Volksgezondheid (Health Canada). De aanvrager refereert aan verschillende toxicologische onderzoeken van het enzympreparaat dat door derden is uitgevoerd, *in vitro* en met ratten. Op basis daarvan concludeert hij dat het betreffende lipase veilig kan worden toegepast.

De informatie in het dossier geeft de commissie alleen een globaal inzicht in de verschillende fasen van het productieproces. De gebruikte technieken zijn echter bekend uit de spijsolie-industrie. De bewering dat de stabiliteit van ENOVA-olie vergelijkbaar is met die van andere spijsoliën wordt door de aanvrager niet verder onderbouwd. De commissie gaat er echter vanuit dat voor het nieuwe product de normale criteria voor houdbaarheid en kwaliteit van eetbare oliën en vetten worden nageleefd. Om de levensmiddelenkwaliteit van de nieuwe olie te waarborgen, wordt de firma geacht zich te houden aan de Richtlijn 93/43/EEG inzake levensmiddelenhygiëne (EG93). Uit de aanvullende informatie die de aanvrager heeft verstrekt over de vetzuursamenstelling (ADM02a), blijkt dat ruim 4% van de ENOVA-olie uit transvetzuren bestaat. De commissie stelt dat dit transvetzuurgehalte niet hoger is dan dat van allerlei commerciële vetten in onze dagelijkse voeding. Het is de commissie bekend dat transvetzuren zo goed als zeker een rol spelen bij het verhogen van de kans op hart- en vaatziekten. Zij wijst op de aanbeveling van de Nederlandse Gezondheidsraad dat de hoeveelheid transvetzuren in industrieel bewerkte eetbare plantaardige oliën en vetten tot een minimum beperkt zou moeten worden (GR02). De Deense Veterinary and Food Administration heeft er recent op aangedrongen de hoeveelheid transvetzuren terug te brengen tot ten hoogste 1 g per 100 g olie.

De commissie merkt op dat in Nederland en in de EU geen officiële toestemming vereist is om enzymen als hulpstoffen bij de voedselbereiding te mogen gebruiken. In sommige lidstaten bestaat er wel een vrijwillige procedure om de veiligheid voor de consument te beoordelen. In Nederland vallen dergelijke hulpstoffen onder de algemene bepalingen van de Warenwet.

De commissie bevestigt dat het geïmmobiliseerde lipase, afkomstig van een genetisch gemodificeerde schimmel *Aspergillus oryzae*, veilig bij de productie kan worden gebruikt. De commissie beoordeelt de aanvullende informatie die de aanvrager heeft verstrekt als betrouwbaar en voldoende. De set toxicologische testen voldoet aan de eisen van het Wetenschappelijk Comité voor de Menselijke Voeding voor het toetsen van enzymen op voedselveiligheid (SCF92), en ook aan de meer recente richtlijnen die Pariza en Johnson hebben voorgesteld (Par01). De commissie merkt op dat de Australische voedselautoriteit de toepassing van ditzelfde lipase twee jaar geleden uitgebreid heeft geëvalueerd, waarna het onder de handelsnaam 'palatase' officieel is toegelaten voor de bereiding van levensmiddelen (FSA00). De toxicologische gegevens in het veiligheidsdossier van deze Australische aanvraag zijn dezelfde als die in het onderhavige dossier (ADM02a, appendix F). Ten overvloede merkt de commissie op dat

door de verschillende hittebehandelingen tijdens het productieproces er geen intacte enzymen of andere eiwitten meer in het eindproduct aanwezig zullen zijn.

Samenvattend concludeert de commissie dat de aanvrager voldoende onderbouwt dat de diacylglycerololie geen verontreinigingen bevat die schadelijk zijn voor de volksgezondheid.

3.3 III Achtergrondinformatie over het als bron voor het NV gebruikte organisme

De vetzuren die bij de productie van de nieuwe olie als uitgangsmateriaal worden gebruikt zijn hoofdzakelijk afkomstig van sojabonenolie (uit zaad van *Glycine max*) en raapzaadolie (uit zaad van *Brassica campestris*). Ook andere gangbare plantaardige oliën worden gebruikt. De zaadoliën zijn afkomstig van zowel traditionele als genetisch gemodificeerde plantaardige gewassen. Volgens de aanvrager zijn deze variëteiten door de overheid goedgekeurd voor menselijke consumptie in de Verenigde Staten, de EU en andere landen.

De commissie bevestigt dat de traditionele plantaardige bronnen veilig zijn voor menselijke consumptie en wereldwijd worden toegepast in de olie- en vetindustrie. De commissie heeft geen bezwaar tegen het gebruik van olie afkomstig van genetisch gemodificeerde gewassen, mits deze oliën zijn goedgekeurd voor menselijke consumptie via een autorisatie of notificatieprocedure binnen de EU.

3.4 IX Verwachte opname en gebruiksfrequentie van het NV

De aanvrager zal de ENOVA-olie op de markt brengen als een gewone spijsolie om thuis te gebruiken. De andere toepassing is als vervanging van de gebruikelijke vetten en oliën in producten uit diverse categorieën levensmiddelen. De aanvrager heeft de hoeveelheden van de nieuwe olie die de consument inneemt met de verschillende eindproducten vastgesteld aan de hand van onderstaande gegevensbestanden over voedselconsumpties. Hierbij heeft de aanvrager, voor zover mogelijk, de gegevens van de Nederlandse consument apart vermeld naast die van 'de Europese consument'.

- 1 Eurostat Data Shop (rapport 1998-99) geeft de gemiddelde waarden van acht Europese landen, gebaseerd op voedselbeschikbaarheidsonderzoek.
- 2 Rapporten van TNO-Voeding over voedselconsumptiepeilingen onder de Nederlandse bevolking in 1997-1998.
- 3 Rapport van het Institute European Food Studies (IEFS) inzake methodologische aspecten van voedselconsumptiepeilingen (gegevens zijn afkomstig van België, Duitsland, Finland, Ierland en Italië).

Voor de toepassing van ENOVA-olie in smeerbare vetten gaat de aanvrager uit van een dagelijkse consumptie van 17 g ENOVA-olie. Dit is gebaseerd op een gemiddeld 'gebruik' van 27 g smeerbare vetten per dag (Eurostat) en ten hoogste 64% vloeibare olie in dit type producten. Voor de Nederlanders zou de dagelijks consumptie van ENOVA-olie iets lager uitkomen, te weten 14 g (TNO-rapport: 22 g smeerbare vetten per persoon per dag).

Het gehalte ENOVA-olie in saladedressings kan 80 à 90% bedragen. Een inneming van 14 g dressing per persoon per dag (Eurostat, inclusief mayonaise) draagt dan 12 à 13 g bij aan de dagelijkse consumptie van de nieuwe olie. Volgens de gegevens van TNO zou dit voor de Nederlanders hoogstens 2 g zijn.

Bakkerijproducten bevatten normaliter ongeveer 1% olie. Indien dit wordt vervangen door ENOVA-olie, dan zal de dagelijkse consumptie ruwweg 1 g zijn, aangezien Europeanen dagelijks 125 g brood en biscuits eten (IEFS). Voor de Nederlanders zijn er meer gedetailleerdere gegevens beschikbaar. Zij consumeren dagelijks 173 g aan brood, biscuits, croissants, gebak, cake, crackers, koekjes (TNO-rapport) zodat de dagelijkse ENOVA-olie inneming op ongeveer 2 g zou uitkomen.

Europeanen (IEFS) en Nederlanders (TNO-rapport) consumeren gemiddeld per dag respectievelijk 55 g en 78 g yoghurt. Hierin kan ongeveer 3% van de nieuwe olie worden verwerkt. De inneming van ENOVA-olie bedraagt dan ongeveer 2 g (respectievelijk 1,7 en 2,3 g).

De aanvrager stelt dat gezondheidsrepen door voedingsbewuste personen worden geconsumeerd. Dit zijn repen (inclusief graanrepen) met veel eiwitten en/of veel energie, en/of verrijkt met vitamines en mineralen. Over consumptie in Europa zijn echter geen gegevens beschikbaar. De aanvrager gaat uit van een dagelijkse inneming van 50 g (vergeleken met 40-60 g in de Verenigde Staten). Als de gezondheidsreep 6% ENOVA-olie bevat, dan zal zo'n reep ongeveer 3 g bijdragen aan de dagelijkse ENOVA-olie consumptie.

Onder gezondheidsdranken verstaat de aanvrager a) sportdrinkjes, b) drankjes met extra vitamines en mineralen, c) vloeibare en instant maaltijdvervangers, en andere producten in poedervorm die moeten worden opgelost. Gegevens over consumptie hiervan ontbreken in Europa. De aanvrager gaat uit van een dagelijkse inneming van 250-325 g. Het vetgehalte van een drankje om je gewicht op peil te houden is meestal 1 gewichtsprocent. Met andere woorden: één blikje drinken kan 3 g bijdragen aan de dagelijkse inneming van ENOVA-olie.

De aanvrager gaat uit van een maximaal veilig niveau van inneming van 2,35 g ENOVA-olie per kg lichaamsgewicht (of wel 165 g olie per persoon van 70 kg per dag). Dit is gebaseerd op de resultaten van een twee jaar durend onderzoek met ratten. De consumptiegegevens van elke productcategorie worden met deze resultaten vergeleken. De aanvrager constateert dat voor alle producten geldt dat de inneming van het

ingrediënt ENOVA-olie onder deze bovengrens ligt. De aanvrager acht het niet waarschijnlijk dat mensen op één dag producten uit alle categorieën ENOVA-oliehoudende levensmiddelen zullen consumeren. Als dit toch gebeurt, dan zal de totale inneming van ENOVA-olie 51 g bedragen voor de gemiddelde Europeaan en 38 g voor de gemiddelde Nederlander (respectievelijk 0,7 en 0,5 g/kg). Omdat ook deze beide waarden onder de veilige bovengrens vallen die de aanvrager hanteert, concludeert hij dat het onwaarschijnlijk is dat onveilige innemingsniveaus bereikt zullen worden.

Daarnaast bespreekt de aanvrager nog een andere, zogeheten holistische benadering. In 16 Europese landen is de gemiddelde dagelijkse consumptie van toegevoegde plantaardige oliën ongeveer 12 g per persoon bij een lichaamsgewicht van 70 kg. De Grieken hebben de hoogste inneming, te weten ongeveer 30 g per dag. De aanvrager gaat ervan uit dat dit reële schattingen zijn van de olie-innemings, omdat deze gegevens gebaseerd zijn op Europese olieproductiegegevens afkomstig van een onafhankelijk voedingsonderzoek-instituut in het Verenigd Koninkrijk (Leatherhead RA). Hierbij is ook de olie die wordt gebruikt voor de industriële bereiding van levensmiddelen automatisch meegerekend.

De commissie heeft kennis genomen van de wijze waarop de beoogde inneming van de ENOVA-olie is afgeleid. Zij wijst erop dat consumptiegegevens op basis van bruto verbruiksgegevens de reële productinneming overschatten. Deze zijn daarom niet meer dan een globale indicatie. Ook is het zo dat de consumptie van bepaalde producten zeer sterk uiteen kan lopen in de verschillende Europese lidstaten. In het geval van gezondheidsrepen en gezondheidsdranken is de consumptie zelfs onbekend. De commissie concludeert dan ook dat de innemingsgegevens beperkt onderbouwd zijn. Aan de hand van de gegevens in het dossier heeft de commissie zelf een globale inschatting gemaakt van de totale dagelijkse inneming door de Nederlandse consument, die uitkomt op gemiddeld 28 g per dag. Dit is gebaseerd op de meest waarschijnlijke combinatie van de verschillende ENOVA-olie-houdende levensmiddelen en het gebruik als spijsolie (waarvoor 12 g/dag is aangehouden). De commissie wijst er echter op dat het onduidelijk blijft, in hoeverre deze inneming representatief is voor consumenten in andere EU lidstaten.

Gegevens over de spreiding van de dagelijkse inneming, en in het bijzonder de maximuminneming, zijn juist belangrijk bij de beoordeling van mogelijke nadelige effecten bij overschrijding van de veilige bovengrens. Voor zowel de Europese als de Nederlands inneming verstrekt de aanvrager alléén gemiddelde waarden. De commissie vindt een gemiddelde van de Europese inneming niet bruikbaar, gezien de verschillen in eetgewoontes tussen de landen. In aanvulling op het dossier heeft de commissie de Nederlandse innemingsgegevens van totaal vet gebruikt om de hoogst mogelijke consumptie af te leiden (*worst case scenario*). Uit voedselconsumptiegegevens van TNO (Hul98) blijkt dat de 90 percentiel van de totale vetinneming bij jonge mannen (19-22

jaar) 161 g is. Deze bevolkingsgroep verbruikt de meeste energie. Het is echter niet reëel te veronderstellen dat al het vet in ons voedsel door diacylglycerolen vervangen zou kunnen worden (de aanvrager gaat uit van ongeveer 30% van al het 'toegevoegde' vet).

3.5 X Informatie op basis van eerdere blootstelling van de mens aan het NV of zijn bron

3.5.1 Huidige blootstelling

De aanvrager vermeldt dat diacylglycerolen, en in veel mindere mate monoacylglycerolen, van nature aanwezig zijn in plantaardige en dierlijke vetten. Dit betreft in het bijzonder zaadoliën zoals katoenzaadolie, sojabonenolie, zonnebloemolie, olijfolie. Ongeveer 1-10% van het vet in ons dagelijkse voedsel bestaat gewoonlijk uit diacylglycerolen. Volgens de commissie krijgt de gewone burger op deze manier zo'n 1-10 g diacylglycerolen binnen.

Monoacylglycerolen en diacylglycerolen zijn internationaal toegestaan als voedseladditieven (emulgatoren). Binnen de Europese Unie is dit vastgelegd in Richtlijn 95/2/EC betreffende levensmiddelenadditieven (EG95). De aanvrager citeert gegevens van derden uit 1989, waaruit zou blijken dat de gecombineerde inneming van deze diacylglycerolen en monoacylglycerolen 3.6 g per dag is. Volgens een rapport uit 1972 zou dit liggen tussen de 1 en 10 g. De Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) heeft in 1974 de veiligheid van dit soort ingrediënten geëvalueerd, en concludeerde dat het vaststellen van een bovengrens niet nodig was. De maximaal toegestane hoeveelheid (ADI, *acceptable daily intake*) is daarom gedefinieerd als 'niet gespecificeerd'.

De aanvrager verwijst naar Japan, waar sinds een jaar of drie al diacylglycerolie en levensmiddelen met diacylglycerolen worden geconsumeerd. Productgerelateerde nadelige gezondheidseffecten zijn niet gerapporteerd.

Samenvattend concludeert de aanvrager dat de bestanddelen van ENOVA-olie al lang deel uit maken van onze dagelijkse voeding, al dan niet kunstmatig toegevoegd.

De commissie meent dat de JECFA evaluatie van de monoacylglycerolen en diacylglycerolen als voedseladditieven maar ten dele relevant is voor de aanvraag in kwestie. Volgens de JECFA behoren de hoeveelheden die van deze additieven worden toegevoegd niet meer te zijn dan dat wat technisch noodzakelijk is. Daarnaast heeft de JECFA zich indertijd voornamelijk beperkt tot de monoacylglycerolen. De commissie stelt dat de toepassing van de diacylglycerolen in de ENOVA-olie anders is; als vetmacronutriënt vormen deze namelijk een belangrijk onderdeel van de dagelijkse voeding.

De commissie erkent dat diacylglycerolen van nature voorkomende chemische verbindingen zijn. Ook produceert het menselijk lichaam zelf diacylglycerolen als omzettingsproduct van triacylglycerolen, het hoofdbestanddeel van gewoon vet. De dagelijks inneming van de diacylglycerololie die de aanvrager voorstelt is van dezelfde orde van grootte als de gezamenlijke inneming via natuurlijke vetten en toegevoegde emulgatoren. Op grond van de ervaring met de in onze voeding al aanwezige diacylglycerolen lijkt het de commissie niet waarschijnlijk dat consumptie van het nieuwe product in de toepassing die de aanvrager voorstelt aanleiding geeft tot nadelige effecten. Ook de voedingskundige gelijkwaardigheid met traditionele triacylglycerololiën ondersteunt deze conclusie (zie paragraaf 3.6). Daarnaast zijn er de commissie vanuit de wetenschappelijke biomedische literatuur geen meldingen bekend dat diacylglycerolenconsumptie wordt geassocieerd met gezondheidsklachten.

3.5.2 Mensgebonden onderzoek

In het dossier bespreekt de aanvrager uitgebreid de resultaten van een dertiental mensgebonden onderzoeken met de diacylglycerololie, deels bij thema XI 'voedingswaarde' en deels bij thema XIII 'toxicologische informatie'. De commissie heeft een aantal van deze onderzoeken buiten beschouwing gelaten, omdat controlegroepen ontbraken en de blootstelling niet precies bekend was. Zij heeft negen onderzoeken geëvalueerd die voor deze veiligheidsbeoordeling het meest relevant zijn. Twee hiervan zijn niet gepubliceerd; deze vertrouwelijke bedrijfsrapporten zijn als bijlagen bij het dossier verstrekt. De aanvrager geeft in twee tabellen informatie over wie het onderzoek gepubliceerd heeft, het aantal deelnemers, de hoeveelheid olie die werd toegediend plus de berekende blootstelling, en de duur van de inneming. De commissie constateert dat slechts twee van de onderzoeken waren opgezet om de veiligheid te evalueren; dit betrof dagelijkse consumptie van diacylglycerololie gedurende drie maanden. Vier van de onderzoeken waren opgezet om fysiologische en voedingskundige aspecten te bestuderen, terwijl bij drie anderen de (beoogde) effecten op het vetmetabolisme zijn beoordeeld.

De aanvrager vat eerst de resultaten samen van een drietal onderzoeken waarin gezonde mannelijke vrijwilligers (10-17 per groep) eenmalig diacylglycerololie kregen toegediend. Dit waren allemaal zogeheten *cross-over* type onderzoeken en waren dubbelblind uitgevoerd. De controlegroep kreeg triacylglycerololie van bijna dezelfde vetzuursamenstelling. De geteste dosis per groep was 10, 20 of 44 g olie dat in een calorierijk drankje werd geëmulgeerd. Nuchter bloed werd afgenomen voorafgaand aan het onderzoek; vier en zes uur na olieconsumptie werden opnieuw bloedmonsters genomen. De onderzochte kenmerken in het serum omvatten standaard hematologische variabelen (aantallen witte en rode bloedlichaampjes en bloedplaatje, Hb, bezinking) en

enzymactiviteiten die indicatief zijn voor leverschade (de transferasen GOT, GPT en gamma-GPT). Daarnaast werd een uitgebreide set klinisch-chemische variabelen beoordeeld, die specifiek op het vetmetabolisme was gericht. Tot deze set behoorden de verschillende type lipiden (oa triglyceriden*, totaalcholesterol, veresterd en vrij cholesterol, vrije vetzuren, fosfolipiden, β -lipoproteïne, lipide peroxide) maar ook bijvoorbeeld glucose en insuline. Tevens werd van verschillende serumlipoproteïnenfracties (te weten chylomicronen, LDL, VLDL en HDL deeltjes) het gehalte aan vetzuren, triacylglycerolen en cholesterol bepaald.

Vervolgens beschrijft de aanvrager de resultaten van een zestal langer durende onderzoeken waarbij de olie dagelijks werd toegediend. Deze onderzoeken zijn allemaal gerandomiseerd, dubbelblind uitgevoerd (één van het *cross-over* type, en 5 parallel) met tussen de 8 en 43 gezonde vrijwilligers per groep. Het doel van deze onderzoeken was, met uitzondering van de twee veiligheidsonderzoeken, de fysiologische en voedingskundige aspecten of de veranderingen in hoeveelheid lichaamsvet te bestuderen. Twee van dit laatste type onderzoek betroffen personen met matig of fors overgewicht. Gedurende de hele onderzoeksperiode, die varieerde van één tot zes maanden, werd dagelijks diacylglyceroololie geconsumeerd in hoeveelheden die in de verschillende onderzoeksgroepen varieerden van 10 tot 44 g per persoon. De controlegroepen kregen triacylglyceroololie met identieke of bijna dezelfde vetzuursamenstelling als de te testen diacylglyceroololie, met uitzondering van één onderzoek (waarin wel sprake was van een vergelijkbare calorische waarde). De oliën waren voor consumptie geschikt gemaakt, meestal door ze te verwerken in levensmiddelen zoals brood, mayonaise, soep, ontbijtproducten, maar ook in kant-en-klare lunches of door ze te emulgeren in een drankje. Regelmatig werd, na een nacht vasten, bloed afgenomen**. De commissie constateert dat de serumkenmerken alleen in de twee veiligheidsonderzoeken uitgebreid zijn beoordeeld. Dezen omvatten uitgebreide hematologie (inclusief bloedstollingsparameters) en verschillende enzymactiviteiten om te beoordelen of de lever normaal functioneert. Ook werden een groot aantal klinisch-chemische testen uitgevoerd, te weten de standaard bepalingen van biochemische variabelen (o.a. eiwit, albumine, ureumstikstof, LDH) en mineralen, en de kenmerken van het vetmetabolisme (dezelfde set als bij de eenmalige toediening). Daarentegen werd in de andere dan veiligheidsonderzoeken maar een beperkt aantal vetmetabolismekenmerken meegenomen - naast een uitgebreide beoordeling van verschillende lichaamsmaten om veranderingen in vetophopen te bestuderen.

* Deze standaard klinisch-chemische term is synoniem met triacylglycerolen

** In alle onderzoeken met de herhaalde innemingen is zogeheten nuchter bloed geanalyseerd. Hierin kunnen dus geen specifieke postprandiale effecten worden aangetoond, dwz effecten die optreden enkele uren na inneming.

Volgens de aanvrager zijn er geen relevante bijzonderheden aan het licht gekomen bij de verschillende onderzoeken. Het type en aantal klachten na consumptie van de testolie verschilde niet van dat van de controle triacylglycerololie bij doseringen van 0,5 – 0,7 g olie per kg lichaamsgewicht gedurende 12 of 24 weken (last van de maag, misselijkheid, diarree of constipatie maar bijvoorbeeld hoofdpijn en verkoudheden kwamen ook voor). Samenvattend stelt de aanvrager dat er geen testproduct gerelateerde gezondheidsklachten of andere nadelige effecten gerapporteerd zijn.

In een drietal onderzoeken met herhaalde blootstelling zijn tevens de concentraties van bepaalde afbraakproducten van vetzuren, de zogenaamde ketonen, in het bloed geanalyseerd. Hieruit blijkt dat de ketonenconcentratie in het bloed niet significant verschilt na langdurige inneming van diacylglycerolen in vergelijking met triacylglycerolen.

De aanvrager stelt dat de mensgebonden onderzoeken duidelijk hebben aangetoond dat de diacylglycerololie veilig is, zelfs als dagelijks grote hoeveelheden worden geconsumeerd.

De commissie beschikt over voldoende gegevens om de veiligheid van de blootstelling bij mensen te evalueren. Zij heeft negen onderzoeken waarnaar de aanvrager verwijst grondig bestudeerd, en meent dat deze van voldoende wetenschappelijke kwaliteit zijn. De commissie stelt vast dat bij gezonde vrijwilligers met een normaal lichaamsgewicht geen klinisch relevante of significante verschillen zijn gevonden na langdurige consumptie van testolie met diacylglycerolen in vergelijking met traditionele triacylglycerololie. Op basis van de beschikbare mensgebonden onderzoeken stemt de commissie in met de aanvrager dat inneming van zo'n 40 g diacylglycerololie per dag geen nadelige effecten op de gezondheid heeft.

3.6 XI Informatie over de voedingswaarde van het NV

De aanvrager zal de ENOVA-olie op de markt brengen als alternatief voor gewone spijsolie. Daarnaast kunnen levensmiddelenfabrikanten het verwerken in verschillende soorten levensmiddelen, wat is toegelicht in paragraaf 3.4.

Op basis van de informatie in wetenschappelijke publicaties geeft de aanvrager eerst een kort, algemeen overzicht van het vetmetabolisme. Vervolgens bespreekt hij uitgebreid de vertering, de absorptie en het metabolisme van diacylglycerolen. De nadruk ligt hierbij op het type chemische verbinding en niet op de individuele vetzuren die hetzelfde zijn als die in veelgebruikte plantaardige oliën en vetten. De diacylglycerololie ENOVA bestaat hoofdzakelijk uit een mengsel van 1,3-diacylglycerolen en 1,2-diacylglycerolen, in een verhouding van 7 : 3 (zie paragraaf 3.1). Deze verbindingen worden in het maagdarmkanaal door lipasen geheel of gedeeltelijk afgebroken, op dezelfde wijze als triacylglycerolen. De aanvrager refereert

aan onderzoek bij de rat waaruit blijkt dat de belangrijkste omzettingsproducten 1 (of 3)-monoacylglycerolen zijn. Deze worden vervolgens omgezet in glycerol en in vetzuren, die als zodanig geabsorbeerd worden door de darm.

Het belangrijkste verschil met de vertering van triacylglycerolen* is dat na inneming van diacylglycerolen de vorming van 2-monoacylglycerolen beperkt is. De aanvrager legt uit dat hierdoor relatief meer vetzuren zullen worden afgebroken waarbij energie vrijkomt, in plaats van dat zij als onderdeel van triacylglycerolen bijdragen aan vetopslag. Niet alleen bij ratten, maar ook bij mensen is aangetoond dat hierdoor de triglyceridenconcentratie in het bloed minder sterk stijgt in de eerste paar uren na consumptie van diacylglycerolie (een zogeheten postprandiaal effect), in vergelijking met consumptie van traditionele olie met triacylglycerolen.

De aanvrager refereert aan een recent, degelijk uitgevoerd onderzoek met ratten, waaruit blijkt dat de energetisch waarde en biologische beschikbaarheid van diacylglycerolie identiek is aan die van triacylglycerolie, mits de vetzuursamenstelling vergelijkbaar is. Samenvattend concludeert de aanvrager dat inneming van ENOVA-olie bij de voorgestelde toepassing, voedingskundig gezien geen enkel nadelig effect zal hebben. De voorziening van essentiële vetzuren is gewaarborgd, want de olie bevat naast linolzuur ook α -linoleenzuur. Tevens wordt de beschikbaarheid van belangrijke voedingsstoffen en energie niet nadelig beïnvloed, omdat de energetische waarde en verteerbaarheid van ENOVA olie gelijk zijn aan die van traditionele triacylglycerololiën.

De commissie stemt in met de conclusie van de aanvrager dat diacylglycerol- en triacylglycerololiën voedingskundig gezien gelijkwaardig zijn. De informatie over de vertering en het metabolisme van diacylglycerolen in het dossier is voldoende onderbouwd met wetenschappelijke gegevens van recente onderzoeken bij hoofdzakelijk ratten, maar ook bij mensen.

De aanvrager bespreekt de mogelijkheid dat de verhoogde vrije vetzuurconcentraties na consumptie van diacylglycerolie zou kunnen leiden tot onvolledige vertering, waardoor een te veel aan zogeheten ketonlichamen wordt geproduceerd. Vanuit voedingsfysiologisch oogpunt acht de commissie het niet waarschijnlijk dat dit zal optreden, wat wordt ondersteund door de resultaten van verschillende mensgebonden onderzoeken in het dossier (zie paragraaf 3.5). Ook zijn in het 105 weken durende toxicologisch onderzoek bij ratten geen bijzonderheden hierover aan het licht gekomen.

* Normaliter worden in de darmwandcellen uit geabsorbeerde 2-monoacylglycerolen en vetzuren opnieuw triacylglycerolen gevormd, zogeheten endogene triacylglycerolen. Deze worden vervolgens verpakt in chylomicronen (lipoproteïne-deeltjes) en komen in de vorm van een fijne emulsie, via de lymfe, in het bloed terecht.

De gegevens die de aanvrager verstrekt over mogelijke gevolgen van diacylglycerolenconsumptie voor vetoplosbare vitamines beperken zich tot één dubbel-blind, parallel uitgevoerd onderzoek met 15 mannelijke vrijwilligers. Deze personen kregen gedurende twaalf weken dagelijks 20 g diacylglycerololie, verwerkt in mayonaise of een drankje. De serumconcentraties van vitamine A, vitamine E (tocoferolen) en vitamine D-derivaten waren na vier, acht en twaalf weken niet significant verschillend van de controlegroep die triacylglycerololie kreeg. De onderzoekers concludeerden dat de absorptie van vetoplosbare vitamines niet nadelig wordt beïnvloed. De commissie meent dat het gerapporteerde onderzoek inzake vetoplosbare vitamines erg kleinschalig is. Daarbij werd maar een beperkte set variabelen beoordeeld; zo ontbraken bijvoorbeeld de carotenoïden (pro-vitamines A). Deze kwestie geeft echter geen reden tot bezorgdheid. De commissie verwacht niet dat door inneming van diacylglycerolen de opname van vetoplosbare vitamine verandert, gezien de voedingskundige gelijkwaardigheid van diacylglycerolen met triacylglycerolen.

3.7 XII Microbiologische informatie over het NV

De aanvrager stelt dat de ENOVA-olie geen aanleiding geeft tot bezorgdheid over microbiologische risico's, gezien het soort productieproces. Uit regelmatige productanalyses blijkt dat de microbiologische kwaliteit voldoet aan de normen voor voedselveiligheid.

De commissie vindt een nadere specificatie van dit onderdeel niet relevant. Gezien de hoge temperaturen die bij het productieproces worden gebruikt en het geringe vochtgehalte van de ENOVA-olie, is het onwaarschijnlijk dat daarin micro-organismen aanwezig zijn.

3.8 XIII Toxicologische informatie over het NV

Diacylglycerololie is onderzocht op mutageniciteit met een *in vitro* test. Daarnaast zijn verschillende toxiciteitstesten uitgevoerd bij ratten. De aanvrager heeft de resultaten hiervan in het veiligheidsdossier samengevat. Tevens verwijst hij naar het beoordelingsrapport van een groep Amerikaanse deskundigen die deze toxiciteitstesten hebben geëvalueerd in verband met de GRAS-aanvraag (zie paragraaf 2.6).

De mutagene potentie van de nieuwe olie is getest in standaard bacteriële mutatie testen met maximaal 5 mg diacylglycerolen per testplaat. Op basis van de negatieve resultaten concludeert de aanvrager dat mutagene activiteit geheel afwezig is.

De acute orale toxiciteit van zowel diacylglycerolen als de diacylglycerololie is getest bij ratten. Tien dieren kregen eenmalig 15 g teststof – of raapzaadolie bij de

controledieren- per kg lichaamsgewicht toegediend via een maagsonde, en werden 14 dagen later aan sectie onderworpen. Nadelige effecten zijn niet waargenomen.

In het subacute onderzoek kregen ratten gedurende 28 dagen voer met een totaal vetgehalte van 10%, waarvan 0,2, 1,0 en 5,0% bestond uit diacylglycerolen. Dit resulteerde in blootstellingen van respectievelijk 0,14, 0,72 en 3,5 g/kg/dag. De toxicologische effecten zijn geëvalueerd aan de hand van standaard criteria, te weten klinische observatie, lichaamsgewicht, voederinname, beoordeling van het oog (ophthalmoscopie), klinisch-chemische (inclusief urine) en hematologische analyses, orgaangewichten en (histo)pathologische analyses. De resultaten duiden niet op toxische effecten. Volgens het Amerikaanse beoordelingsrapport bleken enkele variabelen significant anders bij behandelde ratten (o.a. lagere relatieve nier- of levergewichten) dan bij controleratten die gevoerd waren met standaard rattenvoer, dat met maïsolie was aangevuld tot een vetgehalte van 10%. De auteurs concludeerden dat dit geen behandelingsgerelateerde effecten waren, omdat de betreffende waarden niet afweken van die in de andere groep controledieren. Deze dieren werden gevoerd met vetvrij rattenvoer, waaraan, in plaats van de teststof, 5% raapzaadolie (naast 5% maïsolie) was toegevoegd. Samenvattend concludeert de aanvrager dat toxische effecten niet zijn waargenomen bij ratten die 5% of minder van de teststof in het voer hadden.

Als laatste werden de voedingskundige gevolgen en mogelijke toxiciteit onderzocht bij ratten gedurende chronische blootstelling van twee jaar. Per groep kregen 60 mannelijke en 60 vrouwelijke ratten voer met een totaal vetgehalte van 7%, waarvan 2,65 of 5,3% bestond uit diacylglycerololie. Dit resulteerde in blootstellingen van respectievelijk 1,18 en 2,35 g/kg/dag bij de vrouwtjes en van respectievelijk 0,89 en 1,77 g/kg/dag bij de mannetjes. Eén controlegroep kreeg voer met 5,3% plantaardige oliën van vergelijkbare vetzuursamenstelling als de diacylglycerololie. Een tweede controlegroep kreeg raapzaad- en sojabonolie door het voer gemengd, met een totaal vetgehalte van 5,3%. Na 30 en 77 weken werden tien dieren uit elke groep geofferd en in detail beoordeeld volgens dezelfde criteria als die van een 90 dagen toxicologisch onderzoek met ratten, inclusief analyse van de urine. Dit gold ook voor alle spontaan overleden dieren.

De aanvrager constateert dat het verloop van de natuurlijke sterfte vergelijkbaar was in alle groepen. Na 105 weken waren nog 10 à 16 dieren in leven van de behandelende groepen en 10 à 18 van de controlegroepen. Deze dieren werden wel onderworpen aan sectie, maar niet in detail beoordeeld. De onderzoekers rechtvaardigden dit, omdat er bij de secties tijdens de onderzoeksperiode geen verschillen waren geconstateerd tussen de behandelde ratten en de controledieren die konden worden toegeschreven aan consumptie van de nieuwe olie. De aanvrager bespreekt de resultaten zeer uitgebreid en concludeert dat chronische blootstelling van 2,35 g/kg/dag niet leidt tot toxicologisch significante of behandelingsgerelateerde effecten.

De commissie concludeert dat de door de aanvrager verstrekte toxiciteitstests zorgvuldig zijn uitgevoerd en dat de resultaten overzichtelijk en betrouwbaar zijn weergegeven. Zij meent dat zowel de geteste preparaten met puur diacylglycerolen als de diacylglycerololiën voldoende representatief zijn voor de commercieel geproduceerde ENOVA-olie. Op verzoek van de commissie heeft de aanvrager een gedetailleerde productspecificatie verstrekt van de olie die in het chronisch toxicologisch onderzoek is getest (ADM02a). Uit deze goed gedocumenteerde gegevens blijkt dat de samenstelling van de verschillende partijen van de teststof goed overeenkomt met het commerciële product.

Volgens de commissie heeft de aanvrager de toxicologische onderzoeken correct geëvalueerd. De commissie merkt op dat het 105 weken durend onderzoek bij ratten niet op alle onderdelen is uitgevoerd volgens de OECD richtlijn van chronisch toxicologisch onderzoek, te weten testrichtlijn nr 452. De verkregen informatie is echter voldoende voor de veiligheidsbeoordeling van het nieuwe product, omdat volledige toxicologische beoordelingen, inclusief histopathologie, zijn uitgevoerd na 30 en 77 weken blootstelling aan de diacylglycerolie. Een apart 90 dagen onderzoek bij ratten is daarom overbodig. Bij het chronisch toxicologisch onderzoek werden in de behandelde groepen incidenteel afwijkende waarden aangetoond van enkele hematologische variabelen (o.a. protrombinetijd, aantal bloedplaatjes), klinisch- chemische variabelen (o.a. lactaatdehydrogenase, HDL cholesterol, en enkele aminotransferases) en orgaan gewichten. De aanvrager concludeert terecht dat deze verschillen niet door de teststof worden veroorzaakt, omdat ze niet consistent werden waargenomen: de verschillen werden bijvoorbeeld bij maar één tijdstip aangetoond en/of een dosis afhankelijk effect was afwezig. Daarnaast gingen deze afwijkingen niet gepaard met histopathologische veranderingen.

Gegevens over effecten op reproductie, ontwikkeling of allergeniteit van de nieuwe olie zijn de commissie niet bekend. Zij bevestigt dat de nieuwe diacylglycerolie niet mutageen is. Er zijn geen nadelige effecten vastgesteld bij ratten die gedurende 1,5 jaar dagelijks aan het nieuwe product waren blootgesteld. Gezien het verschil in blootstelling tussen mannelijke en vrouwelijke ratten stelt de commissie de hoogst geteste dosis vast op gemiddeld 2 g diacylglycerolie per kg lichaamsgewicht per dag. Zij beschouwt dit als de NOAEL (*no observed adverse effect level*) omdat hierbij geen behandelingsgerelateerde effecten zijn waargenomen. Alhoewel de commissie het eens is met de aanvrager dat deze dosis de veilige bovengrens van inneming aangeeft, gebaseerd op langdurige blootstelling in onderzoek bij ratten, maakt zij bezwaar tegen het gebruik van de term 'ADI'* of wel 'maximaal toegestane hoeveelheid'. Deze term is gereserveerd voor voedseladditieven, bestrijdingsmiddelen en contaminanten, maar niet voor voedingsmiddelen en voedselingredienten, omdat hiervoor geen volledig dossier

wordt aangeleverd. Op verzoek van de commissie heeft de aanvrager de tekst van de dossiersamenvatting aangepast (zie bijlage D).

Een aantal mensgebonden onderzoeken die relevant zijn voor de beoordeling van ENOVA-olie zijn in paragraaf 3.5 geëvalueerd. Op basis van het totaal aan toxicologische gegevens verwacht de commissie geen nadelige gezondheidseffecten bij mensen die de olie consumeren in de hoeveelheden die de aanvrager voorstelt.

* De ADI (*acceptable daily intake* of wel 'maximaal toegestane hoeveelheid') is door de Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) gedefinieerd als *'the amount of a food additive, expressed on a body weight basis that can be ingested over a lifetime without appreciable risk'*. Op basis van een zeer omvangrijk dossier met de resultaten van oa onderzoek van reproductie, teratogeniciteit, chronische toxiciteit en carcinogeniciteit wordt een *overall* NOAEL (*no observed adverse effect level*) afgeleid. Hiervan kan middels veiligheidsfactoren een ADI worden afgeleid, die op zijn beurt kan worden gebruikt voor de afleiding van productnormen door het beleid.

Literatuur

-
- ADM02 Archer Daniels Midland Company. Dossier: ENOVA™ oil (diacylglycerol oil) as a novel food ingredient in the European Union. Decatur (USA), ADM 2002.
- ADM02a Archer Daniels Midland Company. Brief van 30 augustus 2002 met aanvullende informatie ter beantwoording van vragen van de commissie Veiligheidsbeoordeling nieuwe voedingsmiddelen. Decatur (USA), ADM 2002.
- EG97 Verordening (EG) Nr. 258/97 van het Europees parlement en de Raad van 27 januari 1997 betreffende nieuwe voedingsmiddelen en nieuwe voedsel ingrediënten. Publicatieblad van de Europese Gemeenschappen 1997; L43: 1-6.
- EG97a 97/618/EG: Aanbeveling van de Commissie van 29 juli 1997 betreffende de wetenschappelijke aspecten en de presentatie van de informatie die nodig is om aanvragen voor het in de handel brengen van nieuwe voedingsmiddelen en nieuwe voedsel ingrediënten te ondersteunen alsmede het opstellen van de verslagen van de eerste beoordeling uit hoofde van Verordening (EG) nr. 258/97 van het Europees Parlement en de Raad. Publicatieblad van de Europese Gemeenschappen 1997; L253: 1-36.
- EG00 Richtlijn 2000/13/EG van het Europees Parlement en de Raad van 20 maart 2000 betreffende de onderlinge aanpassing van de wetgeving der lidstaten inzake de etikettering en presentatie van levensmiddelen alsmede inzake de daarvoor gemaakte reclame. Publicatieblad van de Europese Gemeenschappen 2000; L109: 29-42.
- EG93 Richtlijn 93/43/EEG van de Raad van 14 juni 1993 inzake levensmiddelenhygiëne. Publicatieblad van de Europese Gemeenschappen 1993; L175: 1-11.
- EG95 Richtlijn 95/2/EG van het Europees Parlement en van de Raad van 20 februari 1995 betreffende levensmiddelenadditieven met uitzondering van kleurstoffen en zoetstoffen. Publicatieblad van de Europese Gemeenschappen 1995; L61: 1 – 40.
-

- FAO96 Biotechnology and Food Safety. Report of a joint FAO/WHO Consultation. Rome, FAO 1996.
- FAO01 Evaluation of allergenicity of genetically modified foods. Report of a joint FAO/WHO expert consultation on allergenicity of foods derived from biotechnology. Rome, FAO 2001.
- FSA00 Assessment report by the Food Standards Australia New Zealand (FSANZ): Lipase from genetically modified *aspergillus oryzae*, Application A402. <http://www.foodstandards.gov.au/standardsdevelopment/applications/index.cfm>
- GR02 Gezondheidsraad. Enkele belangrijke ontwikkelingen in de voedselconsumptie. Den Haag: Gezondheidsraad, 2002; publicatie nr 2002/12
- GR92 Commissie Toxicologische aspecten van biotechnologisch bereide producten. Productveiligheid bij nieuwe biotechnologie. Den Haag, Gezondheidsraad 1992, publicatienummer 1992/03.
- Hul98 Hulshof KFAM, Kistemaker C, Bouman M. De inname van energie en voedingsstoffen door Nederlandse bevolkingsgroepen – Voedselconsumptiepeilingen 1997–1998. TNO-rapport V98.805, Zeist, 1998.
- OECD93 Safety evaluation of foods derived by modern biotechnology. Concepts and principles. Paris, OECD 1993.
- OECD96 OECD Workshop on Food Safety Evaluation. Paris, OECD 1996.
- OECD98 Report of the OECD workshop on the toxicological and nutritional testing of novel foods. Paris, OECD 1998.
- OECD00 Report of the task force for the safety of novel foods. Paris, OECD 2000.
- Par01 Pariza MW, Johnson EA. Evaluating the safety of microbial enzyme preparations used in food processing: update for a new century. *Regulatory Toxicol Pharmacol* 2001; 33: 173-186.
- SCF92 Guidelines for the presentation of data on food enzymes (Opinion expressed on 11 April 1991). Brussels, Scientific Committee on Food of the EU 1992.
- SCF99 Opinion concerning the scientific basis for determining whether food products, derived from genetically modified maize, could be included in a list of food products which do not require labelling because they do not contain (detectable) traces of DNA or protein. Brussels, Scientific Committee on Food of the EU 1999.
- SSC99 Opinion of the Scientific Steering Committee on microbial resistance, Brussels, Scientific Steering Committee of the EU 1999.
- WHO91 Strategies for assessing the safety of foods produced by biotechnology. Report of a joint FAO/ WHO consultation. Geneva, WHO 1991.
- WHO00 Safety aspects of genetically modified foods of plant origin. Report of a joint FAO/WHO expert consultation on foods derived from biotechnology. Geneva, WHO 2000.
-

-
- A De adviesaanvraag
 - B De commissie
 - C EU-procedure
 - D Samenvatting van het dossier

Bijlagen

De adviesaanvraag

Op 18 augustus 1999 schreef de Minister van Volksgezondheid, Welzijn en Sport aan de Voorzitter van de Gezondheidsraad (brief kenmerk GZB/VVB 993428):

Sinds mei 1997 is in de Europese Unie de Verordening (EG) 258/97 van kracht inzake nieuwe voedingsmiddelen en nieuwe voedsel ingrediënten. Daarmee werd de veiligheidsbeoordeling onderdeel van een communautaire procedure.

Met u is reeds de mogelijkheid besproken de beoordeling door de Gezondheidsraad te laten uitvoeren. Ik verzoek u dan ook mede namens de Staatssecretaris van Landbouw, Natuurbeheer en Visserij, in deze eerste fase van uitvoering van de Europese Verordening (EG) 258/97 gedurende een aantal jaren, de veiligheidsbeoordeling gestalte te geven. Voor het onderbrengen bij de Gezondheidsraad pleit het experimentele karakter dat de beoordeling de eerste jaren zal hebben. Dit experimentele karakter komt voort uit het feit dat het een nieuw soort beoordeling betreft van deels nieuwe categorieën van voedingsmiddelen of voedsel ingrediënten. Het is namelijk een veiligheidsbeoordeling vóór het op de markt brengen van met name voedingsmiddelen van een genetisch gemodificeerde oorsprong en zogenaamd functional foods (nutriceutica). Daarnaast ga ik ervan uit dat de onafhankelijke wetenschappelijke advisering door de Gezondheidsraad het vertrouwen van de Europese Commissie en de andere lidstaten in het Nederlandse oordeel nog versterkt.

Mijn beleid is erop gericht een zo groot mogelijke openheid en transparantie te realiseren van de gevolgde procedure en de beoordeling om de consument vertrouwen te geven in de veiligheid van de

nieuwe voedingsmiddelen. Ik verzoek de Gezondheidsraad hieraan bij te dragen door bijvoorbeeld inzage te geven in de dossiers waarvoor een aanvraag wordt ingediend, waarbij uiteraard bedrijfsvertrouwelijke gegevens worden beschermd en door de criteria, waarop de veiligheid zal worden beoordeeld, te publiceren.

De Minister van Volksgezondheid, Welzijn en Sport,
w.g. dr E Borst-Eilers

De commissie

-
- Prof. dr LM Schoonhoven, *voorzitter*
emeritus hoogleraar entomologie; Wageningen Universiteit en Researchcentrum
 - Prof. dr CAFM Bruijnzeel-Koomen
hoogleraar dermatologie/allergologie; Academisch Ziekenhuis Utrecht
 - Ir EJ Kok
toxicoloog; RIKILT-DLO Wageningen
 - Dr CF van Kreijl
moleculair-bioloog; RIVM Bilthoven
 - Prof. dr P van der Laan
hoogleraar statistiek; Technische Universiteit Eindhoven
 - Dr B Loos, *adviseur*
COGEM, Den Haag
 - Dr F Nagengast
gastro-enteroloog; Academisch Ziekenhuis Nijmegen
 - Dr JMA van Raaij
voedingsfysioloog; Wageningen Universiteit and Researchcentrum
 - Prof. dr G Schaafsma
hoogleraar voeding; TNO Voeding, Zeist
 - Prof. dr EG Schouten
hoogleraar epidemiologie; Wageningen Universiteit and Researchcentrum
 - Dr GJA Speijers
toxicoloog; RIVM Bilthoven
-

- Prof. dr WJ Stiekema
hoogleraar bioinformatica; Wageningen Universiteit en Researchcentrum
- Ir R Top, *adviseur*
Ministerie van VWS; Den Haag
- Prof. dr WM de Vos
hoogleraar microbiologie; Wageningen Universiteit en Researchcentrum
- Dr RA Woutersen
Toxicoloog; TNO Voeding, Zeist
- Dr ir M Rutgers, *secretaris*
Gezondheidsraad, Den Haag

Administratieve ondersteuning: CL Vuijst; Gezondheidsraad, Den Haag

Lay-out: J van Kan; Gezondheidsraad, Den Haag

EU-procedure

Als een fabrikant een nieuw voedingsmiddel op de markt brengt, dient de veiligheid voor de consument gewaarborgd te zijn. In 1997 werd de Europese verordening van kracht waarin de procedure is geregeld voor de goedkeuring voor marktintroductie van een nieuw voedingsmiddel (EG97). Bij deze procedure zijn verschillende actoren betrokken. De aanvrager moet beoordelen of het product werkelijk 'nieuw' is, dat wil zeggen dat het nog niet eerder in de Europese Unie in substantiële mate voor menselijke voeding is gebruikt en ook niet wezenlijk gelijkwaardig is aan een bestaand product. (Voor een wezenlijk gelijkwaardig product kan worden volstaan met een kennisgeving van de marktintroductie.) Ook moet het niet gaan om een levensmiddelenadditief, aroma of extractiemiddel, omdat deze producten op een andere wijze worden beoordeeld. Voor een nieuw voedingsmiddel in de zin van de Europese verordening moet de aanvrager een veiligheidsdossier overleggen volgens aanbevelingen van de Europese Commissie (EG97a). Deze aanbevelingen zijn gebaseerd op rapporten van verschillende instanties die zich met het onderwerp nieuwe voedingsmiddelen bezighouden, te weten de OECD (OECD93, OECD96) en de WHO/FAO (FAO96, WHO91). Ook de Gezondheidsraad heeft zich al eerder over dit onderwerp gebogen (GR92). Sinds het verschijnen van de aanbevelingen van de EU wordt in internationaal verband gewerkt aan explicitering en aanpassing aan de stand van de wetenschap (FAO01, OECD98, OECD00, SCF99, SSC99, WHO00).

De fabrikant levert het volgens de richtlijnen samengestelde dossier in bij het land waar het product het eerst op de markt zal komen. Daarop komt de nationale veiligheidsbeoordelingsautoriteit in actie. In Nederland is dat de Minister van

Volksgezondheid, Welzijn en Sport. Zij heeft de Gezondheidsraad verzocht haar van advies te dienen. De Voorzitter van de Gezondheidsraad heeft hiertoe de commissie Veiligheidsbeoordeling nieuwe voedingsmiddelen (commissie VNV) ingesteld.

De commissie beoordeelt op basis van de huidige stand van de wetenschap of de door de fabrikant geleverde gegevens juist en volledig zijn en of zij het eens is met diens conclusies. Zij maakt een verslag van haar bevindingen — ook volgens de Europese aanbevelingen (EG97a, deel III) — en biedt dat de minister aan. De minister formuleert het Nederlandse oordeel over een voedingsmiddel en brengt dat in bij het Europese overleg in het Permanent Comité voor de voedselketen en de diergezondheid. Alle Europese lidstaten worden uitgenodigd hun oordeel (de zogeheten tweede beoordeling) te geven over het dossier en over de eerste beoordeling alvorens genoemd Comité een eindoordeel velt. Als een dossier veel vragen oproept, gaat er een adviesvraag van de Europese Commissie naar het Wetenschappelijk Comité voor de menselijke voeding. Komt men dan nog niet tot overeenstemming dan beslist de Europese Ministerraad.

Bijlage

D

Samenvatting van het dossier

**New Revised Summary of
the ENOVA™ Oil Petition**

**ENOVA™ OIL (DIACYLGLYCEROL OIL)
AS A NOVEL FOOD INGREDIENT
IN THE EUROPEAN UNION**

**A Novel Food Application presented to
The European Union (The Netherlands)
by:**

SUMMARY

In accordance with the European Union Novel Food Regulations (EC-258/97), Archer Daniels Midland Company (Decatur, Illinois) is applying for the approval to place ENOVA™ oil, a healthier dietary oil, on the European Union market as a novel food ingredient. ENOVA™ oil, also referred to as Diacylglycerol Oil (DAG-oil), is a mixture of approximately 80% diacylglycerol (DAG), 20% triacylglycerol (TAG) and less than 5% monoacylglycerol (MAG). The terms ENOVA™ oil and DAG-oil will be used interchangeably throughout this document.

The intended use of ENOVA™ oil (DAG-oil) is for home use as cooking oil and as an ingredient for fat spreads/margarine, dressing for salads/mayonnaise, bakery products (bread, biscuits, croissants, pastries, cakes, crackers and cookies), yogurt, health bars and health drinks (meal replacers).

The main component of ENOVA™ oil is DAG. The DAG molecules are produced as predominantly 1,3 - DAG (approximately 70%), with smaller amounts (approximately 30%) as 1,2 - DAG. The individual fatty acid side chains are esterified randomly into these positions. Oleic acid (C18:1), linoleic acid (C18:2) and linolenic acid (C18:3) are the main fatty acid components of DAG and are derived primarily from soybean (Glycine max) and rapeseed (Brassica campestris) oils.

DAG is produced by esterification of the already mentioned fatty acids with either monoacylglycerol or glycerol in the presence of an immobilized lipase enzyme (Lipozyme IM®, Novo Nordisk).

From the nutritional point of view, ENOVA™ oil (DAG-oil) will be used as a replacement for the customary cooking oil and as an ingredient of the already indicated food categories. The introduction of ENOVA™ oil (DAG-oil) into the European diet will not impair or limit the availability of essential nutrients, important natural dietary components or energy. This is due to the following reasons: a) DAG-oil has about the same energy value and digestibility as TAG or customary oil (9 Kcal/g); b) The main fatty acid components in DAG-oil are the essential fatty acids Linoleic (15-65%) and Linolenic (about 15%). Thus, DAG-oil will not limit the dietary provisions of these important nutrients; and c) The consumption of DAG-oil does not interfere with the bioavailability of vitamins or impair their intestinal absorption or normal metabolism.

The safety of ENOVA™ (DAG-oil) has been based on the following:

- a) There is a history of previous human exposure to partial glycerides (MAG and DAG) from both, natural sources (primarily seed oils) and as additives (emulsifiers) used in the food industry.
- b) DAG-oil and related DAG products have been consumed by the general population in Japan for over 3 years. No serious adverse effects have been reported.
- c) There are several toxicological studies in experimental animals, that include acute, sub-acute and chronic exposure investigations that demonstrate the safety of DAG-oil, even at levels as high as 2.35 g/kgBW (equivalent to 165 g for a 70 kg reference person).
- d) Experimentally, it has been shown that DAG-oil is not mutagenic.
- e) There are 15 different completed human clinical trials that have been conducted using DAG or DAG-oil at various levels as high as 45 g/day (0.64 g/kgBW) for periods up to one year and no clinically important adverse effects have been observed. These studies include investigations on normal adults and children, diabetic individuals and subjects undergoing

hemodialysis.

- f) A panel of scientific experts in the United States has recently evaluated the existing scientific data on the use of DAG and DAG-oil, concluding that these compounds are safe. Furthermore, that DAG-oil has been accepted for safe use by the U.S. FDA as cooking oil and as an ingredient in margarine/fat spreads. This evaluation has been the basis for gaining GRAS status. Further expansion of the original categories is now being pursued with the U. S. FDA.
- g) Previous safety evaluations of partial glycerides (DAG and MAG) by the Joint Executive Committee on Food Additives (JECFA) and the Federation of American Society for Experimental Biology (FASEB) have also determined that diglycerides are safe for human use.
- h) It has been estimated that in the Netherlands the potential average DAG-oil consumption would be about 38 g/person/day (0.54 g/kg/BW), and in the EU such consumption would be 51 g/person/day (0.73 g/kgBW). Due to the method of calculation, these consumption figures overestimate what may occur in practice.

Animal safety studies show that ENOVA™ oil can be consumed on a long term basis at a tolerable upper intake level of 2.35 g/kg-BW/day, which for a 70 kg BW reference person is equivalent to 165 g/day. Therefore, all this information leads to the conclusion that ENOVA™ oil (DAG-oil) can be safely consumed in Europe as cooking oil and as an ingredient in the proposed food categories under conditions of normal food use. Thus, ENOVA™ oil (DAG-oil) meets the requirements to be cleared as Novel food ingredient in the E.U.

Diacylglycerol oil

Assessment of safety for the consumer, in accordance with European Regulation 258/97 concerning novel foods and novel food ingredients

Letter to the Dutch Minister of Health, Welfare and Sport

On December 12, 2002, professor dr JGAJ Hautvast, Vice-President of the Health Council of the Netherlands wrote as follows to the Minister of Health, Welfare and Sport:

Herewith I present you an advisory report that is prepared in response to your request for advice regarding the safety of diacylglycerol oil for the consumer, also made on behalf of the Minister of Agriculture, Nature management and Fisheries. This advice is a so called initial assessment in the context of European Regulation (EC) 258/97, concerning novel foods and novel food ingredients. The assessment is carried out by the Committee on the Safety Assessment of Novel Foods of the Health Council of the Netherlands.

This advisory report is also presented to the Minister of Agriculture, Nature Management and Fisheries.

Signed
professor dr JGAJ Hautvast

Diacylglycerol oil

Assessment of safety for the consumer, in accordance with European Regulation 258/97 concerning novel foods and novel food ingredients

Health Council of the Netherlands:
Committee on the Safety Assessment of Novel Foods

to:

the Minister of Health, Welfare and Sport

the Minister of Agriculture, Nature Management and Fisheries

No. 2002/07VNV, The Hague, December 12, 2002

The Health Council of the Netherlands, established in 1902, is an independent scientific advisory body. Its remit is “to advise the government and Parliament on the current level of knowledge with respect tot public health issues” (Section 21, Health Act).

The Health Council receives most requests for advice from the Ministers of Health, Welfare & Sport; Housing, Spatial Planning & the Environment; Social Affairs & Employment, and Agriculture, Nature management & Fisheries.

Most Health Council reports are prepared by multidisciplinary committees of Dutch or, sometimes, foreign experts, appointed in a personal capacity. The reports are available to the public.

Preferred citation:

Health Council of the Netherlands: Committee on the Safety Assessment of Novel Foods. ‘Diacylglycerol oil’. The Hague: Health Council of the Netherlands, 2002; publication no. 2002/07VNV.

all rights reserved

A public version of this advisory report can be found on the website of the Health Council of the Netherlands: www.healthcouncil.nl.

Contents

Executive summary and conclusions 59

1 Introduction 63

2 Completeness and accuracy of the dossier 65

2.1 Administrative data 65

2.2 General description of the food 65

2.3 Classification of the food for assessment 65

2.4 Information on the food 66

2.5 Brief summary by the applicant 67

2.6 Other assessments 67

2.7 Proposal for labelling by the applicant 67

3 Interpretation and evaluation of the data submitted 69

3.1 I Specification of the novel food (NF) 69

3.2 II Effects of the production process applied to the NF 70

3.3 III History of the organism used as the source of the NF 72

3.4 IX Anticipated intake and extent of use of the NF 72

3.5 X Information from previous human exposure to the NF or its source 75

3.6 XI Nutritional information on the NF 78

3.7 XII Microbiological information on the NF 80

3.8 XIII Toxicological information on the NF 80

Literature 83

Annexes 85

- A Request for advice 87
- B The committee 89
- C EU-procedure 91
- D Executive summary of the dossier 93

Executive summary and conclusions

The applicant, Archer Daniels Midland Company (ADM), has compiled a safety dossier on ENOVA oil. This novel vegetable oil mainly consists of diacylglycerols and in terms of its constitution, the oil differs from traditional oils that are made up of triacylglycerols. ENOVA oil is manufactured from glycerol and fatty acids using a specific lipase enzyme in the manufacturing process. The fatty acids are obtained from common edible oils. The dossier submitted by the applicant to the Committee on Safety Assessment of Novel Foods contains sufficient chemical, biochemical, nutritional and toxicological information for an assessment to be carried out.

The ADM company has requested approval for ENOVA oil to be placed on the European market as a novel food ingredient. The oil can be used as a replacement for the usual fats and oils in various types of foods. The applicant proposes the following categories: spreadable fats, salad dressings, bakery products, yoghurt, health bars and health drinks. Another intended application of the ENOVA oil would be for home use as cooking oil.

First of all, the Committee concludes that there is limited support for the intended intake data. The applicant provides data of the consumption by European and Dutch people. In both cases, however, only average values are given. The Committee believes that an average intake for all European citizens is not a useable figure in view of the dietary differences between the member states. For the Netherlands, the Committee itself estimated a total daily intake using the data provided by the applicant. Based on the most likely combination of different ENOVA-oil-containing products, average Dutch consumers would have an intake of 28 grams per day.

Diacylglycerols are natural components of animal and vegetable fats. The human body also produces diacylglycerols, as metabolites of triacylglycerols. Moreover, for many years these compounds have been added to a wide range of foods, as emulsifying agents. The Committee concludes that the daily intake of ENOVA oil proposed by the applicant is of the same order of magnitude as the combined intake of diacylglycerols via natural fats and added emulsifying agents. Furthermore, the Committee is not aware of any report from the scientific literature in which consumption of diacylglycerols has been associated with health complaints.

The information contained in the dossier on the digestion and metabolism of diacylglycerols is adequately supported by scientific data from recent studies in which mostly rats but also human subjects were used. The provision of essential fatty acids seems safeguarded, since the oil contains both linoleic acid and alpha-linolenic acid. The Committee is in agreement with the applicant's conclusion that, in nutritional terms, ENOVA oil is equivalent to traditional triacylglycerol oils. The Committee also concurs with the applicant's statement that the consumption of diacylglycerol oil does not result in health problems or other adverse effects. This view is based on the results of studies on human subjects, which were contained in the dossier. The Committee has determined that, in the case of healthy volunteers with a normal body weight, no clinically relevant, significant differences were found between long-term consumers of ENOVA oil and those consuming traditional triacylglycerol oil.

The Committee has set the safe level of exposure to ENOVA oil at a maximum of 140 grams per 70 kilograms of body weight per day. The dossier contains sufficient toxicological information on ENOVA oil to support this conclusion. The results of an *in vitro* mutagenicity test were negative. No adverse effects were found in rats which were daily fed over a period of 18 months, with a diet containing the novel oil at concentrations of 2.65% or 5.3%. The Committee has calculated the highest level of exposure used in this study as the average of the value of male and female rats. This amounts to, on average, 2 grams of diacylglycerol oil per kilogram of body weight per day. It therefore regards this as the NOAEL (*no observed adverse effect level*), since no test oil related effects were observed at this level of exposure.

On the basis of the entire body of data, the Committee concludes that the novel oil is safe for human consumption. The arguments are summarised below.

- Exposure to diacylglycerols already exists. An average consumer does ingest a significant amount of diacylglycerols as part of the normal diet. For the use of ENOVA oil proposed by the applicant, the consumption of diacylglycerols will increase two to five folds. Furthermore, the major components after hydrolysis of ENOVA oil in the gastrointestinal tract, i.e. the fatty acids, are the same as those in customary edible oils.

- Studies using volunteers have shown that a long-term, daily intake of about 40 grams of diacylglycerol oil has no other effects on health than similar consumption of traditional triacylglycerol oils.
- For humans, the safe upper intake level is set at 140 grams of diacylglycerol oil per 70 kilograms of body weight per day (i.e. 2 g/kg/day), based on the results of chronic studies in experimental animals.
- The Committee has used the information on total fat intake in the population of the Netherlands to estimate the highest possible consumption. Food consumption data obtained by TNO Nutrition and Food Research shows that the 90th percentile of the total fat intake in the subpopulation which uses the most energy, being men aged from 19 to 22, is 161 grams. It is not realistic to suppose, however, that the total fat content of our diet could be replaced by diacylglycerols. The Committee therefore considers it unlikely that consumption of ENOVA oil would exceed the safe upper intake level.

Introduction

On 17 April 2002, the Minister of Health, Welfare and Sport requested the advice of the Committee on Safety Assessment of Novel Foods (VNV), hereafter referred to as ‘the Committee’, concerning the safety to consumers of a diacylglycerol oil known as ‘ENOVA oil’. The fatty acids in this novel oil are derived from normal edible oils, but the chemical structure of the fat components differs from that of traditional oils. The ADM company has therefore sought permission for market introduction, in accordance with Regulation (EC) No. 258/97 of the European Parliament and of the Council, concerning novel foods (annex C). The presumed health-promoting action of the novel oil is one of the reasons for introducing it to the market. In this connection, the applicant mentions cardiovascular diseases, atherosclerosis, overweight and diabetes. The VNV Committee stresses that an evaluation of health claims does not fall within the scope of this safety assessment.

Details of the ENOVA oil assessment procedure are given below. The dossier compiled by the applicant, which contained an assessment of the novel product’s safety (ADM02), was first discussed by the Committee in July 2002. On 25 July 2002, the Committee submitted several questions to the company. The most important of these related to a) the enzyme used in the production process and b) the specifications of the products administered in the experimental animal studies and in those involving human subjects. On 30 August 2002, supplementary information was provided by the applicant (ADM02a). After repeated consultation with the applicant regarding a number of points in the response, the Committee completed the assessment when it met in November 2002. This advisory report contains its findings.

Completeness and accuracy of the dossier

2.1 Administrative data

The name and address of the applicant is as follows: ADM Kao LLC, 4666 Faries Parkway, Decatur, IL, 62526, USA. ADM (Archer Daniels Midland Company), has entered into a joint venture ADM Kao LLC, that manufactures the ENOVA oil in the US.

2.2 General description of the food

ENOVA oil is prepared from common edible oils using enzyme technology. It consists mainly of diacylglycerols (synonymous with diglycerides). In this respect the novel oil differs from traditional vegetable oils, which mainly consist of triacylglycerols (synonymous with triglycerides). The major fatty acids in ENOVA oil are oleic acid and linoleic acid. Not only does the applicant plan to position the oil on the market as ordinary edible oil, he also wants food producers to incorporate it into various end products. The applicant proposes the following categories for this purpose: spreadable fats (including margarine), salad dressings (including mayonnaise), bakery products, yoghurt, health bars and health drinks (see Annex D).

2.3 Classification of the food for assessment

The applicant submits a proposed classification as part of theme III, ‘History of the source organism used for the production of the diacylglycerol oil’. It is proposed that the novel product should be placed in class 1, sub-class 1.1, as described in part I of European Commission Recommendation 97/618 (EC97a). This means that it is a simple mixture of chemical substances, derived from non-genetically modified sources, and that these sources have been previously used for foods within the European Community.

The Committee concurs with the applicant that the novel oil falls into category e ‘foods isolated from plants’ of the novel food regulation (EC97). The Committee does not concur with classification into sub-class 1.1. This is because the applicant has stated that there is a possibility that some of the starting material may come from genetically modified sources, given the range of seed oils currently available on the global market. The Committee therefore concludes that the current classification (EC97a) is inappropriate for the product in question. Further information can be found in section 3.3.

2.4 Information on the food

The applicant structures the information essential to the assessment of novel food consumption in accordance with the themes prescribed in European Commission Recommendation 97/618 (EC97a).

- I Specification of the novel food (NF)
 - II Effects of the production process applied to the NF
 - III History of the organism used as the source of the NF
 - IX Anticipated intake and extent of use of the NF
 - X Information from previous human exposure to the NF or its source
 - XI Nutritional information on the NF
 - XII Microbiological information on the NF
 - XIII Toxicological information on the NF
-

The applicant presents a well-organised discussion of each of these topics. For details of the data used, the applicant refers the reader either to the appendices or to appropriate scientific articles. The dossier contains sufficient chemical, biochemical, nutritional and toxicological information for an assessment of the safety of the NF to be carried out. The Committee has also consulted scientific literature in the field of biomedicine.

2.5 Brief summary by the applicant

The dossier includes a brief summary that has been sent to the member states, as required under Article 6, paragraph 2 of European Regulation (EC) 258/97 (EC97).

2.6 Other assessments

In May 1998, the Japanese government granted Kao Corporation permission to place the novel diacylglycerol oil on the Japanese market. The name of the commercial product is 'Econa® oil'. In addition to its use as a cooking oil, diacylglycerol oil is being incorporated into margarine, salad dressing, canned tuna, some baked goods and curry-roux.

In December 2000, Kao Corporation's diacylglycerol oil was given GRAS status (Generally Recognised As Safe) by the Food and Drug Administration in the United States of America (US FDA). The report by the American experts who assessed the safety of this oil has been included in the present dossier, as appendix 15. This relates to the applicant's proposal that the product in question be used as an edible oil and as an ingredient in margarine-like products. The joint company consisting of ADM and KAO Corporation will market the oil in the United states of America under the name of 'ENOVA™ oil'.

2.7 Proposal for labelling by the applicant

Labelling should comply with Directive 2001/13/EC (EC00) and Article 8 of European Regulation (EC) 258/97 (EC97). No assessment is given on this in the present report, as labelling proposals are discussed by the Regular Consultations on the Commodity Act in the Netherlands.

Interpretation and evaluation of the data submitted

3.1 I Specification of the novel food (NF)

ENOVA oil consists largely of diacylglycerols. The major fatty acids are oleic acid and linoleic acid. The applicant specifies his product as follows:

- diacylglycerol >80%
- triacylglycerol <20%
- monoacylglycerol <5%
- unsaturated fatty acids
 - oleic acid 20-65%
 - linoleic acid 15-65%
 - alpha-linolenic acid <15%
- saturated fatty acids (palmitic acid and stearic acid) <10%

The majority of the diacylglycerols (70%), the so-called 1,3 diacylglycerols, have no fatty acid esterified to the middle carbon atom of the glycerol chain. The remaining 30% consist of 1,2 (or 2,3) diacylglycerols. The product also contains small amounts of antioxidants <0.2% (ascorbyl palmitate, tocopherol mixture) and free fatty acids (<0.2%). The maximum phytosterol content is 1.2%.

Although the dossier contains details of the physical and chemical characteristics of diacylglycerol oil, there is no description of the methods used to analyse the ingredients. The Committee assumes that validated standard techniques were used for this purpose.

On the basis of the compositional data provided, which pertains to five representative lots, the Committee concludes that there was little variation in the period of production from 1998 to 2000 (ADM02). The average linoleic acid and oleic acid content of the oil produced during this period was 60% and 28% respectively of the total amount of fatty acids. Data from more recent production runs, in February and March 2002, also shows that the oil contains more linoleic acid (46%) than oleic acid (37%) (ADM02a). The saturated fatty acid fraction, which mainly consists of palmitic acid and stearic acid, is fairly consistent and amounts to approximately 4% of all fatty acids. This recent compositional data shows that the erucic acid content is 0.02% of the total fatty acid content (ADM02a). The Committee is of the opinion that this is sufficiently low for ENOVA oil to be used as an edible oil.

The Committee concludes that the product information reliably indicates the actual composition of the ENOVA oil that is to be marketed, and that it is sufficient for the purposes of safety assessment.

3.2 II Effects of the production process applied to the NF

Glycerol and fatty acids, the latter obtained from edible oil, are used for the production of the novel oil. All starting products are of food quality. The diacylglycerols are synthesised using a specific 1,3 lipase. This enzyme stereospecifically esterifies the fatty acids onto glycerol, such that the middle carbon atom (C2) remains unoccupied. In this process, no distinction is made between the first carbon atom and the third carbon atom. The applicant states that the European food industry has been using such an enzymatic esterification process since 1993. The crude product is purified by distillation, decolourisation and, finally, by deodorisation. After this, antioxidants are added.

The applicant has demonstrated the absence of eight heavy metals, including lead, arsenic and mercury, in ENOVA oil. The detection limit used in this instance was 0.5 mg per kg.

At the Committee's request, the applicant has provided extensive information concerning the enzyme used (ADM02a). This information is briefly recapitulated below. The enzyme Lipozyme^{IM} is isolated from the fungus *Aspergillus oryzae*. This fungus has been genetically modified for this purpose by introduction of the gene that codes for the lipase enzyme from the fungus *Rhizomucor miehei*. In theory, the end product should not contain any lipase enzyme since, during the production of the diacylglycerols, the Lipozyme^{IM} is fixed to a carrier (it is immobilised). The food industry's use of enzymes derived from *Aspergillus oryzae* dates back to before 1958. This microorganism is not known to have any pathogenic characteristics, and the US FDA considers it to be safe. Lipozyme^{IM} has been officially approved for use in the preparation of food by the Veterinary and Food Administration in Denmark and by the Canadian federal

department Health Canada. The applicant makes reference to various toxicological studies carried out on the enzyme preparation by third parties, both *in vitro* and in rats. On this basis, he concludes that the lipase in question can be safely used.

The information contained in the dossier only provides the Committee with a broad view of the various phases in the production process. However, the techniques employed are the same as those used in the edible oil industry. The applicant provides no support for his assertion that the stability of ENOVA oil is comparable to that of other edible oils. The Committee assumes, however, that the novel product will comply with the normal shelf-life and quality criteria for edible oils and fats. In order to safeguard the food quality of the novel oil, the company is expected to adhere to Directive 93/43/EEC on food hygiene (EC93). Supplementary information on the product's fatty acid composition, provided by the applicant (ADM02a), shows that well over 4% of the ENOVA oil consists of trans fatty acids. The Committee states that this level of trans fatty acids is not higher than that of all sorts of commercially available fats in our daily diet. The Committee knows that it is virtually certain that this type of fatty acid contributes to an increased the risk of cardiovascular diseases. It refers to the recommendation of the Health Council of the Netherlands that the amount of trans fatty acids in industrially processed edible vegetable oils and fats should be kept to a minimum (HCN02). The Danish Veterinary and Food Administration recently insisted that the amount of trans fatty acids should be reduced to no more than 1 g per 100 g of oil.

The Committee notes that in the Netherlands and the EU, no official permission is required in connection with the use of enzymes as processing aids in the preparation of foods. Some member states do assess the safety of such enzymes for consumers, although the procedure involved is voluntary. In the Netherlands, processing aids of this type are covered by the general provisions of the Commodities Act.

The Committee confirms that the immobilised lipase, which is derived from a genetically modified fungus of the species *Aspergillus oryzae*, can be safely used in this production process. The Committee finds the supplementary information provided by the applicant to be both adequate and reliable. The set of toxicological tests meet the requirements of the European Commission's Scientific Committee on Food concerning the testing of enzymes for food safety (SCF92). They also meet the more recent guidelines proposed by Pariza and Johnson (Par01). The Committee notes that, two years ago, the Australian food authority conducted an extensive evaluation of this very lipase. Following this, it was authorised for use in the preparation of foods, under the trade name of 'palatase' (FSA00). The toxicological data in the safety dossier used in that Australian application are the same as those contained in the present dossier (ADM02a, appendix F). Perhaps unnecessarily, the Committee notes that, as a result of

the various heat treatments used during the production process, the end product will not contain any intact enzymes or other proteins.

In summary, the Committee concludes that the applicant has sufficiently demonstrated that diacylglycerol oil contains no contaminants that are harmful to public health.

3.3 III History of the organism used as the source of the NF

The fatty acids that are used as starting material for the novel oil are mainly derived from soybean oil (from the seeds of *Glycine max*) and rapeseed oil (from the seeds of *Brassica campestris*). Other normal vegetable oils are also used. The seed oils are derived from both traditional and genetically modified vegetable crops. According to the applicant, these varieties have been approved for human consumption by the governments of the United States, the EU and other countries.

The Committee confirms that the traditional vegetable sources are safe for human consumption, and that these are used throughout the world in the oil and fat industry. The Committee has no objection to the use of oil derived from genetically modified crops, provided that these oils have been approved for human consumption via an authorisation procedure or notification procedure within the EU.

3.4 IX Anticipated intake and extent of use of the NF

The applicant will place ENOVA oil on the market as customary cooking oil for home use. Its other application is as a replacement of oils used in various categories of foods. The applicant has calculated the quantities of the novel oil that will be ingested by consumers in the various end products. This calculation was performed on the basis of the following databases on food consumption. The applicant has listed, as far as possible, the figure of the average Dutch consumer in addition to that of the average European consumer.

- 1 Eurostat Data Shop (1998-99 report) gives the average values for eight European countries, based on production and availability of foods.
- 2 Reports drawn up by TNO Nutrition and Food Research on food consumption surveys of the population of the Netherlands in 1997-1998.
- 3 Report drawn up by the Institute of European Food Studies (IEFS) regarding the methodological aspects of food consumption surveys (the data is from Belgium, Germany, Finland, Ireland and Italy).

With regard to the use of ENOVA oil in spreadable fats, the applicant has worked on the basis of a daily consumption of 17 g ENOVA oil. This is based on an average intake of

27 g of spreadable fats per day (Eurostat) and on a liquid oil content of no more than 64% in products of this type. The daily consumption of ENOVA oil in the population of the Netherlands would be a little lower, namely 14 g (TNO report: 22 g spreadable fats per person per day).

The amount of ENOVA oil in salad dressings can reach 80 to 90%. An intake of 14 g of dressing per person per day (Eurostat, including mayonnaise) would therefore contribute 12 to 13 grams to the daily consumption of the novel oil. For the population of the Netherlands, according to TNO's data, this would amount to no more than 2 g.

Bakery products normally contain about 1% of oil. If this is replaced by ENOVA oil, then the daily consumption would be approximately 1 g, since Europeans eat 125 g of bread and biscuits per day (IEFS). More detailed data is available on the population of the Netherlands. They daily consume 173 g of bread, biscuits, croissants, pastries, cakes, crackers and cookies (TNO report), so their daily intake of ENOVA oil would amount to about 2 g.

The average daily amounts of yoghurt consumed by Europeans (IEFS) and Dutch people (TNO report) are 55 g and 78 g respectively. The novel oil can be incorporated into yoghurt, at a concentration of about 3%. The intake of ENOVA oil would then amount to about 2 g (1.7 g and 2.3 g respectively).

The applicant states that health bars are consumed by nutritionally conscious individuals. Bars of this type (which include cereal bars) contain high protein and/or high energy and may be enriched with vitamin and mineral. However, no details are available concerning the levels of consumption in Europe. The applicant assumes a daily intake of 50 g (compared to 40-60 g in the United States). Considering a 6% fat replacement, health bars would contribute about 3 g to daily ENOVA oil consumption.

The applicant uses the term 'health drinks' to mean a) sport drinks b) drinks containing added vitamins and minerals, c) liquid and reconstituted meal replacements, and dry powder non-reconstituted products. There is no data on the consumption of these products in Europe. The applicant assumes a daily intake of 250-325 g. Drinks for maintaining your body weight generally have a fat content of 1 percent by weight. In other words, one unit (can) of drink can contribute 3 g to the daily intake of ENOVA oil.

The applicant works on the basis of a safe upper intake level of 2.35 g of ENOVA oil per kg of body weight (equivalent to 165 g of oil per 70 kg individual per day). This is based on the results of a two-year study in rats. The consumption data in each proposed product category are compared to these results. The applicant observes that, for all products, the intake of ENOVA oil as an ingredient is below this upper intake limit. The applicant considers it unlikely that a given individual will consume products from all categories of ENOVA-oil-containing foods on the same day. However, if this should happen, then the total intake of ENOVA oil would amount to 51 g for the average European and 38 g for the average Dutch person (0.7 g/kg and 0.5 g/kg respectively).

Since both of these values also lie beneath the safe upper intake level used by the applicant, the latter concludes that unsafe intake levels are unlikely to be reached.

The applicant also discusses another option, known as the holistic approach. In 16 European countries, the average daily consumption of added vegetable oils amounts to about 12 g per individual with a body weight of about 70 kg. The Greeks have the highest intake level, at about 30 g per day. The applicant assumes that these are realistic estimates of oil intake, since this data is based on European oil production information from an independent food research institute in the United Kingdom (Leatherhead RA). This data automatically includes the oil used as ingredient in industrially processed foods.

The Committee has noted the way in which the figure for the intended intake of ENOVA oil was derived. It points out that consumption data based on food production information tends to over-estimate the actual product intake. This is therefore only a rough indication. It is also the case that the consumption of certain products can differ highly from one European member state to another. In the case of health bars and health drinks, there is no information whatsoever regarding consumption. The Committee therefore concludes that there is limited support for the intake data. For the average Dutch consumer, the Committee itself estimated a total daily intake using the data provided by the applicant, which amounted to about 28 g per day. This was based on consumption of the most likely combination of different ENOVA-oil-containing products and ENOVA-cooking-oil (at an intake of 12 g/day). The Committee points out, however, that it remains unclear whether this total daily intake is representative of consumers in other EU member states.

Data on the distribution of daily intake and on maximum intake in particular are essential for an assessment of possible adverse effects associated with exceeding the safe upper intake level. The applicant provides only average values of the consumption by European and Dutch people. The Committee believes that an average intake of all European citizens is not a useable figure in view of the dietary differences between the member states. In addition, the Committee has used the information on total fat intake in the population of the Netherlands to estimate the highest possible consumption (worst case scenario). Food consumption data produced by TNO (Hul98) shows that the 90th percentile of total fat intake in young men (aged 19 to 22) is 161 grams. This population group consumes the most energy. It is not realistic to suppose, however, that the total fat content of our diet could be replaced by diacylglycerols (according to the applicant this amounts to approximately 30% of total fat consumption from added sources).

3.5 X Information from previous human exposure to the NF or its source

3.5.1 Current exposure

The applicant states that diacylglycerols and, to a much lesser extent, monoacylglycerols, are naturally present in animal and vegetable fats. This is especially true of seed oils such as cottonseed oil, soybean oil, sunflower oil and olive oil. About 1-10% of the fat in our daily diet normally consists of diacylglycerols. According to the Committee, this means that the average citizen ingests from 1-10 g of diacylglycerols in this way.

Monoacylglycerols and diacylglycerols are internationally approved for use as food additives (emulsifying agents). Within the European Union, this has been set out in Directive No. 95/2/EC on food additives (EC95). The applicant cites data produced by third parties in 1989, which is claimed to show that the combined intake of these diacylglycerols and monoacylglycerols amounts to 3.6 g per day. A 1972 report stated that this value was between 1 and 10 g. In 1974, the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) assessed the safety of such ingredients. It concluded that it was not necessary to set an upper intake limit. As a result, the ADI (Acceptable Daily Intake) was defined as 'unspecified'.

The applicant makes reference to the situation in Japan, where the general consumption of diacylglycerol oil and foods containing diacylglycerols started about three years ago. To date, no product-related, adverse health effects have been reported.

In summary, the applicant concludes that the ENOVA oil components have been in the food chain for many years, from both natural sources and as food additives.

The Committee is of the opinion that the JECFA evaluation of the use of monoacylglycerols and diacylglycerols as food additives is only partially relevant to the application in question. The JECFA states that the amounts of these additives that are added to food should be no more than is technically necessary. Also, at that time, the JECFA's investigation was mainly restricted to the monoacylglycerols. The Committee states that the use of the diacylglycerols in the ENOVA oil is different. This is because, as a fat macronutrient, these make up an important part of the daily diet.

The Committee acknowledges the fact that diacylglycerols are naturally occurring chemical compounds. The human body also produces diacylglycerols, as metabolites of triacylglycerols, the main component of ordinary fat. The daily intake of the diacylglycerol oil proposed by the applicant is of the same order of magnitude as the joint intake via natural fats and added emulsifying agents. Based on the fact that such diacylglycerols are already present in our diet, the Committee takes the view that consumption of the novel product in the use proposed by the applicant will be unlikely

to result in adverse effects. The nutritional equivalence with traditional triacylglycerol oils also supports this conclusion (see section 3.6). In addition, the Committee is not aware of any report from the scientific literature in the field of biomedicine, in which consumption of diacylglycerols has been associated with health complaints.

3.5.2 *Research involving human subjects*

In the dossier, the applicant discusses in detail the results of thirteen studies on diacylglycerol oil, all of which involved human subjects. Details are included under theme XI 'nutritional value' and under theme XIII 'toxicological information'. The Committee has disregarded several of these studies because they did not use control groups nor did they give accurate data on the level of exposure. It assessed nine studies which were of the most relevance to this safety assessment. Two of these studies, both confidential company reports, have not been published. They have been included in the dossier as appendices. The applicant includes two tables containing information about who published the study, the number of subjects involved, the amount of oil administered, the calculated exposure and the period of intake. The Committee states that only two of the nine studies were set up for the purposes of safety assessment, evaluating the results of daily consumption over a period of three months. Four of the studies were set up to study physiological and nutritional aspects, while three others assessed the presumed effects on fat metabolism.

The applicant first summarises the results of three single-dose studies that were all carried out using double-blind, crossover design. Healthy male volunteers (10-17 per group) ingested a single-dose of diacylglycerol oil. The control group received triacylglycerol oil with almost the same fatty acid composition. The tested dose per group was 10, 20 or 44 g of oil, emulsified in a calorie-rich drink. Fasting blood samples were taken prior to the oil administration, and blood samples were again taken four and six hours after oil consumption. The serum parameters investigated include standard haematological variables (numbers of white and red blood cells, and blood platelets, Hb, erythrocyte sedimentation rate) and enzyme activities that are indicative of liver damage (the GOT, GPT and gamma-GPT transferases). In addition, an extensive set of clinical-chemical variables was assessed, which specifically targeted fat metabolism. This set included the various types of lipid (including triglycerides*, total cholesterol, esterified and free cholesterol, free fatty acids, phospholipids, β -lipoprotein, lipid peroxide) but also glucose and insulin amongst others. The concentration of fatty acids, triacylglycerols and cholesterol in various serum lipoprotein fractions (namely chylomicrons, LDL, VLDL and HDL particles) was measured.

* This standard clinical-chemical term is synonymous with triacylglycerols

The applicant then goes on to review the results of six longer-term studies in which the oil was administered daily. These repeated dose studies all used a randomised, double-blind design (one was of the crossover type and five were parallel) and had 8 to 43 volunteers per group. Apart from the two safety studies, the aim of these repeated dose studies was to investigate physiological and nutritional aspects or changes in body fat. Two of the latter type of studies involved individuals who were overweight or obese. Throughout the entire period of the studies, which varied from one to six months, diacylglycerol oil was consumed in daily amounts which, in the various study groups, varied from 10 to 44 g per individual. The control groups received triacylglycerol oil whose fatty acid composition was identical, or almost identical, to the diacylglycerol oil to be tested. One study differed in this respect, although the control oil in question did have a comparable caloric value. The oils were rendered suitable for consumption, mainly by incorporating them into foods such as bread, mayonnaise, soup, breakfast products and ready-made lunches, or by emulsifying them in drinks. Blood was taken at regular intervals, after an overnight fast*. The Committee observed that only in the case of the two safety studies large numbers of serum parameters were assessed. These included extensive haematology (including blood coagulation parameters) and various enzyme activities, in order to assess whether the liver function was normal. An extensive set of clinical-chemical tests were carried out, namely the standard tests for biochemical variables (including protein, albumin, urea nitrogen, LDH) and minerals, as well as the parameters of fat metabolism (the same set as in the single-dose studies). Conversely, the studies aiming at other endpoints than safety only examined a limited set of fat metabolism parameters, in addition to an extensive assessment of various body size measurements in order to study changes in body fat deposition.

According to the applicant, the various studies did not reveal any clinically relevant findings. At dosages of 0.5-0.7 g oil per kg of bodyweight over a period of 12 or 24 weeks, the type and number of complaints after consumption of the test oil were not different compared to those after consumption of the control triacylglycerol oil (gastrointestinal complaints as well as upper respiratory infections and headaches were listed). In summary, the applicant states that no health complaints or other adverse effects have been reported in relation to the test product.

Three studies involving repeated exposure also measured the blood levels of ketones (breakdown products of fatty acids). This showed that the concentration of ketones in the blood following the long-term intake of diacylglycerols did not differ significantly from that found when triacylglycerols were used.

* So-called 'fasting blood' was analysed in all of the repeated dose studies. This means that no specific postprandial effects could be demonstrated, i.e. effects that occur several hours after ingestion.

The applicant states that the studies on human subjects have clearly demonstrated that diacylglycerol oil is safe, even when large amounts are consumed on a daily basis. The Committee has sufficient data to assess the safety of exposure in humans. It has extensively examined nine studies referred to by the applicant, and has concluded that these are of adequate scientific quality. The Committee has determined that, in the case of healthy volunteers with a normal body weight, no clinically relevant or significant differences were found between long-term consumers of test oil containing diacylglycerols and those consuming traditional triacylglycerol oil. On the basis of available studies on human subjects, the Committee agrees with the applicant that a daily intake of about 40 g of diacylglycerol oil has no adverse effects on health.

3.6 XI Nutritional information on the NF

The applicant intends to place ENOVA oil on the market as an alternative to customary edible oil. Food manufacturers can also incorporate the oil into various types of foods, as explained in section 3.4.

The applicant first gives a short, general summary of fat metabolism, based on information derived from scientific publications. He follows this with an extensive discussion of digestion, absorption and diacylglycerol metabolism. The emphasis here is on the type of chemical compound involved, and not on the individual fatty acids, since these are the same as those in commonly used vegetable oils and fats. ENOVA is a diacylglycerol oil consisting mainly of a mixture of 1,3-diacylglycerols and 1,2-diacylglycerols in a ratio of 7:3 (see section 3.1). These compounds are partially or completely broken down by lipases in the gastrointestinal tract, in the same way as triacylglycerols. The applicant refers to research in rats which shows that the main conversion products are 1 (or 3)-monoacylglycerols. These are then converted into glycerol and fatty acids, which are absorbed as such by the intestine.

The most important difference with the digestion of triacylglycerols* is that, following the intake of diacylglycerols, the formation of 2-monoacylglycerols is limited. As a result, relatively more fatty acids are broken down to release energy. According to the applicant, this means that they are not available for re-synthesis in triacylglycerols, and hence do not contribute to fat deposition. Studies on rats and humans have shown that, in the first couple of hours after consuming diacylglycerol oil, this produces a smaller increase in the concentration of triglycerides in the blood (a postprandial effect) compared to the consumption of traditional, triacylglycerol-containing oils.

* In the cells which line the intestine, 2-monoacylglycerols and fatty acids absorbed from the intestinal lumen are normally used to re-synthesise triacylglycerols. The latter are referred to as endogenous triacylglycerols. These are then packaged in chylomicrons (lipoprotein particles), after which they pass through the lymph system and enter the blood as a fine emulsion.

The applicant makes reference to a recent, well conducted study in rats. This showed that the energy value and biological availability of diacylglycerol oil is identical to that of triacylglycerol oil, provided that this has a comparable fatty acid composition. In summary, the applicant concludes that it is not likely that the intake of ENOVA oil in the proposed application could have any negative nutritional impact. The provision of essential fatty acids is safeguarded, since the oil contains both linoleic acid and alpha-linolenic acid. Furthermore, there is no adverse effect on the availability of important nutrients and energy, since this novel oil's energy value and digestibility are the same as those of traditional triacylglycerol oils.

The Committee concurs with the applicant's conclusion that, in nutritional terms, diacylglycerol oils are equivalent to triacylglycerol oils. The information contained in the dossier on the digestion and metabolisms of diacylglycerols is adequately supported by scientific data from recent studies. While most of these studies were performed on rats, some of the others did in fact use human subjects.

The applicant discusses the possibility that the elevated free fatty acid concentrations which follow the consumption of diacylglycerol oil could lead to incomplete digestion, resulting in the production of excess ketone bodies. From the point of view of nutritional physiology, the Committee considers it unlikely that this would occur. It is supported in this view by the results of various studies on human subjects which have been included in the dossier (see section 3.5). Nor indeed did the 105-week toxicological study in rats reveal anything unusual in this regard.

The applicant supplied data on the possible repercussions of diacylglycerol consumption for fat-soluble vitamins. This was limited to a single study of 15 male volunteers using a double-blind, parallel design. For twelve weeks, these individuals received a daily amount of 20 g of diacylglycerol oil, incorporated into mayonnaise or a drink. After intervals of four, eight and twelve weeks, the serum concentrations of vitamin A, vitamin E (tocopherols) and vitamin D derivatives were not significantly different from those of a control group given triacylglycerol oil. The researchers concluded that the absorption of fat-soluble vitamins had not been adversely affected. The Committee is of the opinion that the reported study of fat-soluble vitamins was a very small-scale investigation. Furthermore, only a limited set of variables was assessed. No mention was made of carotenoids (pro-vitamins A), for example. However, this issue is not a cause for concern. Given that, in nutritional terms, diacylglycerols are equivalent to triacylglycerols, the Committee does not expect the ingestion of diacylglycerols to change the uptake of fat-soluble vitamins.

3.7 XII Microbiological information on the NF

With regard to microbiological risks, the applicant states that ENOVA oil gives no cause for concern, due to the nature of production process used. Ongoing microbiological testing of different production batches always yields values within safe food limits.

The Committee is of the opinion that any further specification of this section would be irrelevant. In view of the high temperatures used during the production process and the limited moisture content of ENOVA oil, this product is unlikely to contain any microorganisms.

3.8 XIII Toxicological information on the NF

Diacylglycerol oil has been investigated for mutagenicity, using an *in vitro* test. In addition, various toxicity tests have been carried out in rats. The applicant has summarised all of these results in the safety dossier. He also points to the assessment report drawn up by a group of American experts, who assessed these toxicity tests in connection with the GRAS application (see section 2.6).

The mutagenic potential of the novel oil has been tested in standard bacterial mutation tests, using a maximum of 5 mg of diacylglycerols per test plate. On the basis of all negative responses, the applicant concludes that the product is devoid of mutagenic activity.

The acute oral toxicity of both diacylglycerols and diacylglycerol oil has been tested in rats. Using oral intubation, ten animals were given a single dose of 15 g of test compound per kg of body weight (the control animals received 15 g of rapeseed oil). After 14 days, the rats were sacrificed and autopsied. No adverse effects were observed.

In the subacute study, for a period of 28 days rats were given feed with a total fat content of 10% of which 0.2%, 1.0% and 5.0% consisted of diacylglycerols. This resulted in exposures of 0.14, 0.72 and 3.5 g/kg/day respectively. The toxicological effects were assessed against standard criteria, namely clinical signs, body weight, feed intake, ophthalmoscopic examination, clinical-chemical (including urine) and haematological analyses, organ weights, gross pathological examination and microscopic examination of appropriate tissues. The results did not reveal any evidence of toxic effects. According to the American assessment report, in the treated rats a few variables were significantly different (such as lower kidney and liver weights) from those in control rats. The latter had been fed on standard rat feed whose fat level had been adjusted to 10% using maize oil. The authors concluded that these effects were not treatment-related, since the values in question did not differ from those found in another group of control animals. These animals were fed with fat-free rat feed to which, instead

of the test substance, 5% rapeseed oil (in addition to 5% maize oil) had been added. In summary, the applicant concludes that no toxic effects were observed in rats who had received 5% or less of the test compound in their feed.

Finally, nutritional repercussions and possible toxicity were investigated in rats during chronic exposure over a period of two years. Per group, 60 male and 60 female rats were given feed with a total fat content of 7%, of which 2.65% or 5.3% consisted of diacylglycerol oil. This resulted in exposures of 1.18 and 2.35 g/kg/day respectively in the females, and 0.89 and 1.77 g/kg/day respectively in the males. One control group was given feed with 5.3% vegetable oils whose fatty acid composition was comparable to that of diacylglycerol oil. A second control group received feed mixed with rapeseed oil and soybean oil, which had a total fat content of 5.3%. Ten animals from each group were sacrificed after 30 and 77 weeks. These individuals were subjected to a detailed assessment using identical criteria to those employed in a 90-day toxicological study in rats, including an analysis of the urine. The same procedure was applied to any animals which died early.

The applicant reports that all groups had a comparable pattern of early deaths. After 105 weeks, the number of survivors ranged from 10 to 16 in the treated groups and from 10 to 18 in the control groups. These animals were autopsied, but they were not assessed in detail. The researchers justified this on the grounds that autopsies carried out during the study period revealed no differences between the treated rats and the control animals that could be ascribed to consumption of the novel oil. The applicant discusses the results of this study in detail and concludes that a chronic exposure of 2.35 g/kg/day does not produce toxicologically significant or treatment-related effects.

The Committee concludes that the toxicity tests put forward by the applicant were carried out well and that the results were presented in an orderly and proper manner. It is of the opinion that the tested preparations of pure diacylglycerols and of diacylglycerol oils are both sufficiently representative of commercially produced ENOVA oil. At the Committee's request, the applicant has provided a detailed product specification of the oil that was tested in the chronic toxicological study (ADM02a). This well documented data shows that the composition of the various lots of test compound corresponds well with that of the commercial product.

The Committee believes that the applicant has correctly assessed the results of the toxicological studies. The Committee points out that some aspects of the 105-week study in rats were not carried out in accordance with the OECD guideline for chronic toxicological studies (Test Guideline 452). However, the information supplied is sufficient for a safety evaluation of the novel product. This is because full toxicological assessments, including histopathology, were carried out after 30 and 77 weeks of exposure to diacylglycerol oil. Accordingly, a separate 90-day study in rats is unnecessary. During the chronic toxicological study, anomalous values for some

variables were occasionally found in the groups of treated animals. This involved some haematological variables (such as prothrombin time, number of blood platelets), clinical-chemical variables (such as lactate dehydrogenase, HDL cholesterol, and several aminotransferases) and organ weights. The Committee agrees with the conclusion of the applicant that these differences were not caused by the test compound since they were not consistently observed: the differences were demonstrated at a single point in time, for example and/or they showed no dose-dependent effect. Furthermore, none of these anomalies were associated with histopathological changes.

To the best of the Committee's knowledge, there is no data to suggest that the novel oil has allergenic potential or has any effects on reproduction and development. It can confirm that the novel diacylglycerol oil is not mutagenic. No adverse effects have been found in rats which were exposed to the novel product on a daily basis for a period of 18 months. In view of the difference in exposure between male and female rats, the Committee has fixed the highest tested dose at on average 2 g of diacylglycerol oil per kg of body weight per day. It regards this as the NOAEL (no observed adverse effect level), since no treatment-related effects were observed at this level of exposure. On the basis of long-term exposure studies in rats, the Committee concurs with the applicant that this dose represents the safe upper intake level. However, it objects to the use of the term 'ADI'* or 'Acceptable Daily Intake'. This term is reserved for food additives, pesticides and contaminants, but not for foods or food ingredients, since no complete dossiers are being submitted for the latter category. At the Committee's request, the applicant has modified the text of the dossier summary (see annex D).

A number of studies on human subjects which are relevant to the assessment of ENOVA oil have been evaluated in section 3.5. On the basis of all the available toxicological data, the Committee does not anticipate that individuals consuming the oil in the quantities proposed by the applicant will experience any adverse health effects.

* The ADI (Acceptable Daily Intake) is defined by the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) as 'the amount of a food additive, expressed on a body weight basis that can be ingested over a lifetime without appreciable risk'. To determine an overall NOAEL (No Observed Adverse Effect Level), a very extensive dossier is required containing the results of studies into reproduction, teratogenicity, chronic toxicity and carcinogenicity. By using safety factors, an ADI can be derived from this value. The ADI in turn can be used to derive product reference values by means of policy.

Literature

-
- ADM02 Archer Daniels Midland Company. Dossier: ENOVA™ oil (diacylglycerol oil) as a novel food ingredient in the European Union. Decatur (USA), ADM 2002.
- ADM02a Archer Daniels Midland Company. Letter dated August 30, 2002, with additional information to answer questions of the Committee Safety Assessment of Novel Foods. Decatur (USA), ADM 2002.
- EC93 Council Directive 93/43/EEC of 14 June 1993 on the hygiene of foodstuffs. Official Journal 1993; L 175: 1–11).
- EC95 European Parliament and Council Directive No 95/2/EC of 20 February 1995 on food additives other than colours and sweeteners. Official Journal 1995; L 061: 1 – 40.
- EC97 Regulation (EC) 258/97 of the European Parliament and of the Council of 27 January 1997 concerning novel foods and novel food ingredients. Official Journal 1997; L43: 1-6.
- EC97a 97/618/EC: Commission Recommendation of 29 July 1997 concerning the scientific aspects and the presentation of information necessary to support applications for the placing on the market of novel foods and novel food ingredients and the preparation of initial assessment reports under Regulation (EC) No 258/97 of the European Parliament of the Council. Official Journal 1997; L 253: 1-36.
- EC00 Directive 200/13/EC of the European Parliament and of the Council of 20 March 2000 on the approximation of the laws of the Member States relating to the labelling, presentation and advertising of foodstuffs Official Journal 2000; L 109: 29-42.
- FAO96 Biotechnology and Food Safety. Report of a joint FAO/WHO Consultation. Rome, FAO 1996.
- FAO01 Evaluation of allergenicity of genetically modified foods. Report of a joint FAO/WHO expert consultation on allergenicity of foods derived from biotechnology. Rome, FAO 2001.
-

- FSA00 Assessment report by the Food Standards Australia New Zealand (FSANZ): Lipase from genetically modified *Aspergillus oryzae*, Application A402. <http://www.foodstandards.gov.au/standardsdevelopment/applications/index.cfm>
- HCN92 Commissie Toxicologische aspecten van biotechnologisch bereide producten. Productveiligheid bij nieuwe biotechnologie. The Hague, Health Council of the Netherlands 1992, publication number 1992/03.
- HCN02 Health Council of the Netherlands: Committee on Trends in food consumption. Significant trends in food consumption in the Netherlands. The Hague: Health Council of the Netherlands, 2002; publication no. 2002/12.
- Hul98 Hulshof KFAM, Kistemaker C, Bouman M. De inname van energie en voedingsstoffen door Nederlandse bevolkingsgroepen – Voedselconsumptiepeilingen 1997–1998. TNO-rapport V98.805, Zeist, 1998.
- OECD93 Safety evaluation of foods derived by modern biotechnology. Concepts and principles. Paris, OECD 1993.
- OECD96 OECD Workshop on Food Safety Evaluation. Paris, OECD 1996.
- OECD98 Report of the OECD workshop on the toxicological and nutritional testing of novel foods. Paris, OECD 1998.
- OECD00 Report of the task force for the safety of novel foods and feeds. Paris, OECD 2000.
- Par01 Pariza MW, Johnson EA. Evaluating the safety of microbial enzyme preparations used in food processing: update for a new century. *Regulatory Toxicol Pharmacol* 2001; 33: 173-186.
- SCF92 Guidelines for the presentation of data on food enzymes (Opinion expressed on 11 April 1991). Brussels, Scientific Committee on Food of the EU 1992.
- SCF99 Opinion concerning the scientific basis for determining whether food products, derived from genetically modified maize, could be included in a list of food products which do not require labelling because they do not contain (detectable) traces of DNA or protein. Brussels, Scientific Committee on Food of the EU 1999.
- SSC99 Opinion of the Scientific Steering Committee on microbial resistance, Brussels, Scientific Steering Committee of the EU 1999.
- WHO91 Strategies for assessing the safety of foods produced by biotechnology. Report of a joint FAO/WHO Consultation. Geneva, WHO 1991.
- WHO00 Safety aspects of genetically modified foods of plant origin. Report of a joint FAO/WHO expert consultation on foods derived from biotechnology. Geneva, WHO 2000.

-
- A Request for advice
 - B The committee
 - C EU-procedure
 - D Executive summary of the dossier

Annexes

Request for advice

On 18 August 1999, the Minister of Health, Welfare and Sport wrote as follows to the President of the Health Council of the Netherlands (under reference GZB/VVB 993428):

Since May 1997, Regulation (EC) 258/97 concerning novel foods and novel food ingredients has been in force in the European Union. Under the Regulation, the safety of novel foods has to be assessed as part of a community procedure.

Following discussions regarding the possibility of the Health Council making such assessments, the State Secretary for Agriculture, Nature Management and Fisheries and I wish the Council to take responsibility for safety assessment for a period of several years during the first phase of implementation of European Regulation (EC) 258/97. It is considered appropriate that the Health Council should initially take on this role because the assessment activities will be of an experimental nature, involving both a new form of assessment (i.e. pre-marketing assessment) and, in many cases, new categories of foodstuff (primarily foodstuffs with a genetically modified basis and functional foods or nutraceuticals). We also feel that if assessments are made by a body with the Council's independent scientific status, this will support the validity of the Netherlands' opinion in the eyes of the European Committee and other member states.

My wish is to make the procedure and the assessment as open and transparent as possible, so as to enhance consumer trust in the safety of novel foods. I would like the Health Council to support this

objective by, for example, allowing perusal of the application dossier (insofar as consistent with the need to protect the confidentiality of commercially sensitive information) and publishing the criteria upon which safety assessments are made.

The Minister of Health, Welfare and Sport,
(signed) dr E Borst-Eilers

The Committee

-
- Prof. dr LM Schoonhoven, *chairman*
emeritus professor of entomology; Wageningen University and Research centre
 - Prof. dr CAFM Bruijnzeel-Koomen
professor of dermatology/allergology; Academic Hospital Utrecht
 - Ir EJ Kok
toxicologist; National Institute for Quality Control of Agricultural Products,
Wageningen
 - Dr CF van Kreijl
molecular biologist; National Institute of Public Health and the Environment,
Bilthoven
 - Prof. dr P van der Laan
professor of statistics; Technical University Eindhoven
 - Dr B Loos, *advisor*
Committee on Genetic Modification, The Hague
 - Prof. dr FM Nagengast
gastro enterologist; Academic Hospital Nijmegen
 - Dr ir JMA van Raaij
food physiologist; Wageningen University and Research centre
 - Prof. dr ir G Schaafsma
professor of nutrition; TNO Nutrition and Food Research, Zeist
 - Prof. dr EG Schouten
professor of epidemiology; Wageningen University and Research centre
-

- Dr GJA Speijers
toxicologist; National Institute of Public Health and the Environment, Bilthoven
- Prof. Dr WJ Stiekema
professor of bioinformatics; Wageningen University and Research centre
- Ir R Top, *advisor*
Ministry of Health, Welfare and Sport; The Hague
- Prof. dr WM de Vos
professor of microbiology; Wageningen University and Research centre
- Dr RA Woutersen
toxicologist; TNO Nutrition and Food Research, Zeist
- Dr ir M Rutgers, *scientific staff member*
Health Council of the Netherlands, The Hague

Administrative assistance: CL Vuijst; Health Council of the Netherlands, The Hague

Lay-out: J van Kan; Health Council of the Netherlands, The Hague

EU-procedure

When manufacturers bring novel foodstuffs onto the market, consumer safety has to be ensured. In 1997, a European Regulation (EC97) came into force, laying down the procedure for approving the market introduction of novel foodstuffs. The procedure recognizes various actors. The applicant must decide whether a product is a novel foodstuff, i.e. a substance that has not previously been available for human consumption to any substantial extent within the European Union and is not substantially equivalent to any existing product. (If a foodstuff is substantially equivalent to any existing product, it is sufficient to inform the authorities of its market introduction). Food additives, aromas and extracts are excluded from the provisions of the directive, since they fall within the scope of an established assessment regime. Before marketing a novel foodstuff, the applicant must compile a safety dossier that complies with the Recommendations of the European Commission (EC97a). These Recommendations are based on reports by a number of bodies that have studied the issue of novel foodstuffs, in particular the OECD (OECD93, OECD96) and the WHO/FAO (FAO96, WHO91). The Health Council of the Netherlands has also considered the question earlier (HCN92). Since publication of the EU recommendations, international efforts have been made to clarify and adapt the latest scientific knowledge in the field (FAO01, OECD98, OECD00, SCF99, SSC99, WHO00).

Having compiled a dossier in line with the guidelines, the manufacturer has to submit it to the competent authority in the country where the product is to be marketed first. This dossier is assessed by the national safety assessment authority. In the Netherlands, this is the Minister of Health, Welfare and Sport, who is advised by the

Health Council. The President of the Health Council has created a Committee on the Safety Assessment of Novel Foods (VNV Committee) to advise the minister on behalf of the Council.

On the basis of the scientific state of the art, the committee has to decide whether the information provided by the manufacturer is accurate and complete and whether the manufacturer's conclusions are sound. The committee then draws up a report on its findings for the minister; this report must also comply with the European Recommendation (EC97a, part III). After considering the report, the minister formulates the Netherlands' opinion regarding the foodstuff in question, which is discussed at European level in the Standing Committee on the Food Chain and Animal Health. All other European member states are invited to express a 'second opinion' regarding the dossier and the first opinion. The Standing Committee then arrives at a final judgement. If a dossier is particularly contentious, the European Commission calls upon the Scientific Committee on Food for advice. If consensus still cannot be reached, the issue is referred to the European Council of Ministers.

Annex

D

Executive summary of the dossier

**New Revised Summary of
the ENOVA™ Oil Petition**

**ENOVA™ OIL (DIACYLGLYCEROL OIL)
AS A NOVEL FOOD INGREDIENT
IN THE EUROPEAN UNION**

**A Novel Food Application presented to
The European Union (The Netherlands)
by:**

SUMMARY

In accordance with the European Union Novel Food Regulations (EC-258/97), Archer Daniels Midland Company (Decatur, Illinois) is applying for the approval to place ENOVA™ oil, a healthier dietary oil, on the European Union market as a novel food ingredient. ENOVA™ oil, also referred to as Diacylglycerol Oil (DAG-oil), is a mixture of approximately 80% diacylglycerol (DAG), 20% triacylglycerol (TAG) and less than 5% monoacylglycerol (MAG). The terms ENOVA™ oil and DAG-oil will be used interchangeably throughout this document.

The intended use of ENOVA™ oil (DAG-oil) is for home use as cooking oil and as an ingredient for fat spreads/margarine, dressing for salads/mayonnaise, bakery products (bread, biscuits, croissants, pastries, cakes, crackers and cookies), yogurt, health bars and health drinks (meal replacers).

The main component of ENOVA™ oil is DAG. The DAG molecules are produced as predominantly 1,3 - DAG (approximately 70%), with smaller amounts (approximately 30%) as 1,2 - DAG. The individual fatty acid side chains are esterified randomly into these positions. Oleic acid (C18:1), linoleic acid (C18:2) and linolenic acid (C18:3) are the main fatty acid components of DAG and are derived primarily from soybean (Glycine max) and rapeseed (Brassica campestris) oils.

DAG is produced by esterification of the already mentioned fatty acids with either monoacylglycerol or glycerol in the presence of an immobilized lipase enzyme (Lipozyme IM[®], Novo Nordisk).

From the nutritional point of view, ENOVA™ oil (DAG-oil) will be used as a replacement for the customary cooking oil and as an ingredient of the already indicated food categories. The introduction of ENOVA™ oil (DAG-oil) into the European diet will not impair or limit the availability of essential nutrients, important natural dietary components or energy. This is due to the following reasons: a) DAG-oil has about the same energy value and digestibility as TAG or customary oil (9 Kcal/g); b) The main fatty acid components in DAG-oil are the essential fatty acids Linoleic (15-65%) and Linolenic (about 15%). Thus, DAG-oil will not limit the dietary provisions of these important nutrients; and c) The consumption of DAG-oil does not interfere with the bioavailability of vitamins or impair their intestinal absorption or normal metabolism.

The safety of ENOVA™ (DAG-oil) has been based on the following:

- a) There is a history of previous human exposure to partial glycerides (MAG and DAG) from both, natural sources (primarily seed oils) and as additives (emulsifiers) used in the food industry.
- b) DAG-oil and related DAG products have been consumed by the general population in Japan for over 3 years. No serious adverse effects have been reported.
- c) There are several toxicological studies in experimental animals, that include acute, sub-acute and chronic exposure investigations that demonstrate the safety of DAG-oil, even at levels as high as 2.35 g/kgBW (equivalent to 165 g for a 70 kg reference person).
- d) Experimentally, it has been shown that DAG-oil is not mutagenic.
- e) There are 15 different completed human clinical trials that have been conducted using DAG or DAG-oil at various levels as high as 45 g/day (0.64 g/kgBW) for periods up to one year and no clinically important adverse effects have been observed. These studies include investigations on normal adults and children, diabetic individuals and subjects undergoing

hemodialysis.

- f) A panel of scientific experts in the United States has recently evaluated the existing scientific data on the use of DAG and DAG-oil, concluding that these compounds are safe. Furthermore, that DAG-oil has been accepted for safe use by the U.S. FDA as cooking oil and as an ingredient in margarine/fat spreads. This evaluation has been the basis for gaining GRAS status. Further expansion of the original categories is now being pursued with the U. S. FDA.
- g) Previous safety evaluations of partial glycerides (DAG and MAG) by the Joint Executive Committee on Food Additives (JECFA) and the Federation of American Society for Experimental Biology (FASEB) have also determined that diglycerides are safe for human use.
- h) It has been estimated that in the Netherlands the potential average DAG-oil consumption would be about 38 g/person/day (0.54 g/kg/BW), and in the EU such consumption would be 51 g/person/day (0.73 g/kgBW). Due to the method of calculation, these consumption figures overestimate what may occur in practice.

Animal safety studies show that ENOVA™ oil can be consumed on a long term basis at a tolerable upper intake level of 2.35 g/kg-BW/day, which for a 70 kg BW reference person is equivalent to 165 g/day. Therefore, all this information leads to the conclusion that ENOVA™ oil (DAG-oil) can be safely consumed in Europe as cooking oil and as an ingredient in the proposed food categories under conditions of normal food use. Thus, ENOVA™ oil (DAG-oil) meets the requirements to be cleared as Novel food ingredient in the E.U.