

SZAKVÉLEMÉNY

Szakvélemény a (6S)-5-metiltetrahidrofolsav, glükózamin só, mint étrendkiegészítő és az élelmiszerekhez hozzáadott folátforrás alkalmazásáról¹

Az EFSA Élelmiszerekhez Hozzáadott Élelmiszeradalékok és Tápanyagforrások Bizottsága (ANS)^{2,3}

Európai Élelmiszerbiztonsági Hatóság (EFSA), Parma, Olaszország

ABSZTRAKT

Az Európai Bizottság arra kérte fel az Európai Élelmiszerbiztonsági Hatóság (EFSA) Élelmiszerekhez Hozzáadott Élelmiszeradalékok és Tápanyagforrások Bizottságát (ANS), hogy készítsen szakvéleményt a (6S)-5-metiltetrahidrofolsav, glükózamin-só (5MTHF-glükózamin) biztonságosságáról abban az esetben, ha a vegyület élelmiszer-összetevőként étrendkiegészítés céljából, folátforrásként alkalmazják, valamint a belőle felszabaduló folát biológiai hasznosíthatóságáról. Az 5-metiltetrahidrofolsav, kalcium só (5MTHF-Ca) folátforrásként történő alkalmazását már korábban engedélyezték. Az 5MTHF-glükózamin használatát alternatív folátforrásként javasolják az élelmiszer-összetevők előállításánál. A javaslat szerint legfeljebb 1,8 mg/nap dózisban alkalmazható, ami megfelel 1 mg 5MTHF és 0,8 mg glükózamin használatának. Egy humán önkéntesek bevonásával végzett, keresztetett, komparatív, a biológiai hasznosíthatóságot vizsgáló tanulmány eredményei alapján a Bizottság megállapította, hogy az 5MTHF-glükózaminból felszabadult folát biológiai hasznosíthatósága hasonló volt az 5MTHF-Ca-sóból felszabaduló folát paramétereire. A Bizottság szerint az 5MTHF-glükózamin az emésztőrendszer vizes közegében alkotóelemeire, 5MTHF-re és glükózaminra bomlik. Az 5MTHF komponens minden bizonnyal hasonló mértékben szívódik fel a vékonybélben, mint a táplálkozás során felvett 5MTHF vagy az 5MTHF-Ca. Az 5MTHF-glükózaminnal végzett *in vitro* genotoxicitási vizsgálatok eredményei alapján a Bizottság megállapította, hogy az 5MTHF-glükózamin forrás nem jelentett genotoxikológiai kockázatot. A Bizottság mindezek alapján megállapította, hogy az étrendkiegészítés céljából, alternatív folátforrásként alkalmazni kívánt 5MTHF-glükózamin javasolt dózisa nem jelent biztonsági kockázatot. A Bizottság ugyanakkor nem vizsgálta az 5MTHF-glükózamin biztonságosságát az elfogyasztani kívánt folát mennyiségének tekintetében, ugyanis ez kívül esik az ANS Bizottság hatáskörén. A diétás termékek, táplálkozás és allergiák tudományos testülete (NDA) fog javaslatot tenni a népesség foláttal kapcsolatos referencia beviteli mennyiségével kapcsolatosan 2015-ig (EFSA-Q-2011-01212).

© Európai Élelmiszerbiztonsági Bizottság, 2013

Kulcsszavak

folsav, 5-metiltetrahidrofolsav, folát, glükózamin

¹ Az Európai Bizottság kérésére. Kérdés száma: EFSA-Q-2012-00843, 2013. szeptember 11.

² A Bizottság tagjai: Fernando Aguilar, Riccardo Crebelli, Birgit Dusemund, Pierre Galtier, David Gott, Ursula Gundert-Remy, Jürgen König, Claude Lambré, Jean-Charles Leblanc, Pasquale Mosesso, Alicja Mortensen, Agneta Oskarsson, Dominique Parent-Massin, Martin Rose, Ivan Stankovic, Paul Tobback, Ine Waalkens-Berendsen, Ruud Woutersen és Matthew Wright. Kapcsolat: ans@efsa.europa.eu

³ A Bizottság köszönettel tartozik a Táplálékkiegészítők és Élelmiszer-adalékok 'A' Munkacsoport tagjainak: Pierre Galtier, Rainer Guertler, Ursula Gundert-Remi, Claude Lambré, John Christian Larsen, Jean-Charles Leblanc, Pasquale Mosesso, Dominique Parent-Massin, Ivan Stankovic, Christina Tlustos és Matthew Wright előkészítő munkájukért.

Javasolt hivatkozás: EFSA ANS Panel (EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food), 2013; Scientific Opinion on (6S)-5-methyltetrahydrofolic acid, glucosamine salt, as a source of folate added for nutritional purposes to food supplements. EFSA Journal 2013;11(10):3358. [20 pp.] doi:10.2903/j.efsa.2013.3358.

Online elérhetőség: www.efsa.europa.eu/efsajournal

ÖSSZEFOGLALÁS

Az Európai Bizottság arra kérte fel az Európai Élelmiszerbiztonsági Hatóság (EFSA) Élelmiszerekhez Hozzáadott Élelmiszeradalekok és Tápanyagforrások Bizottságát (ANS), hogy készítsen szakvéleményt a (6S)-5-metiltetrahydrofolsav, glükózamin-só (5MTHF-glükózamin) biztonságosságáról abban az esetben, ha a vegyületet élelmiszer-összetevőként étrendkiegészítés céljából, folátforrásként alkalmazzák, valamint a belőle felszabaduló folát biológiai hasznosíthatóságáról. Az ANS Bizottság ugyanakkor nem vizsgálta folát biztonságosságát az elfogyasztani kívánt mennyiség tekintetében, ugyanis ez kívül esik a hatáskörén. A diétás termékek, táplálkozás és allergiák tudományos testülete (NDA) fog javaslatot tenni a népesség foláttal kapcsolatos referencia beviteli mennyiségére vonatkozóan 2015-ig (EFSA-Q-2011-01212).

Az 5MTHF-glükózamint mesterséges úton folsavból állítják elő formaldehid segítségével történő kémiai redukció és kondenzáció révén. A racém elegy tisztítását kristallizációs eljárással végzik, amelynek révén tiszta (6S)-5-metiltetrahydrofolsav állítható elő, amelyből a glükózamin só előállítható.

Az 5MTHF stabilitását vitamintablettába történő beépítés során vizsgálták, és úgy találták, hogy 18, illetve 12 hónapig is megőrzi stabilitását a vitamintablettákban, szobahőmérsékleten tárolva.

Az 5MTHF-glükózamint a 2002/46/EK irányelve alapján alternatív folátforrásként javasolják az étrendkiegészítők gyártása során. Javasolt napi dózisa legfeljebb 1,8 mg/nap, vitamin, multivitamin és nyomelem-tabletták formájában, folátforrásként fogyasztva, ami 1 mg 5MTHF-nek és 0,8 mg glükózaminnak felel meg.

Az 5-metiltetrahydrofolsav, kalcium só (5MTHF-Ca) folátforrásként történő alkalmazását már korábban engedélyezték az EU élelmiszer-kiegészítőkkel foglalkozó, a Bizottság 1170/2009/EK rendelete által módosított 2002/46/EK irányelve alapján.

A kérelmező nem nyújtott be az 5MTHF-glükózaminból felszabaduló folát biológiai hasznosíthatóságára vonatkozó, állatkísérleten alapuló adatokat. Egy humán önkéntesek bevonásával végzett, keresztezett, komparatív, a biológiai hasznosíthatóságot vizsgáló tanulmány az 5MTHF-glükózaminból és az 5MTHF-Ca-ból felszabaduló folát biológiai hasznosíthatóságát hasonlította össze egyszeri, szájon át bevett dózist követően, mindkét esetben 400 µg szabad folátként (valamint mindkét esetben 400 µg folsav együttes adásával). Az 5MTHF-glükózamint és az 5MTHF-Ca-ot kapott önkéntesek folát plazmaszintje között nem találtak szignifikáns különbségeket. A Bizottság véleménye alapján az 5MTHF-glükózaminból és az 5MTHF-Ca-ból felszabaduló folát biológiai hasznosíthatósága emberben vizsgálva hasonló.

A Bizottság szerint az 5MTHF-glükózamin az emésztőrendszer vizes közegében alkotóelemeire, 5MTHF-re és glükózaminra bomlik. Az 5MTHF komponens minden bizonnyal hasonló mértékben szívódik fel a vékonybélben, mint a táplálkozás során felvett 5MTHF, az 5MTHF-Ca gátsav.

Az 5MTHF-glükózaminra vonatkozóan nem érhető el toxikológiai adatok, kivéve genotoxicitási adatokat, amelyeket a kérelmező bocsátott rendelkezésre. A Bizottság megállapította, hogy mivel az 5MTHF-glükózamin egyedi alkotó ionjaira bomlik, ezért a toxicitási vizsgálatok az egyes komponensek (5MTHF és glükózamin) alapján is elvégezhetők.

Annak meghatározására, hogy a 5MTHF-glükózamin, amennyiben megfelel a kérelmező által nyújtott specifikációknak, jelent-e genotoxikus kockázatot, többféle vizsgálatot végeztek: Ames-teszt 5 teszter törzssel - *Salmonella typhimurium* TA1535, TA1537, TA98 és TA100, valamint *Escherichia coli* WP2 uvrA; 5-trifluoro-timidin-rezisztens mutánsok indukciójának vizsgálata egér limfóma L5178Y sejtekben; valamint kromoszóma-rendellenességek vizsgálata kínai aranyhörcsög ovárium (CHO) sejteken. Végeredményben a Bizottság véleménye alapján az 5MTHF-glükózamin nem jelent fokozott genotoxikológiai kockázatot.

Az 5MTHF-Ca-ot az Élelmiszer-adalekanyagok, aromák, technológiai segédanyagok és az élelmiszerekkel érintkezésbe kerülő anyagok (AFC) tudományos testülete 2004-ben értékelte ki, és a

beszámoló alapján az 5MTHF-Ca vizes közegben teljes mértékben kalcium- és 5MTHF-ionokra bomlik.

Ismert, hogy az 5MTHF-Ca nem genotoxikus. Patkányokon végzett szubkrónikus és fejlődési toxicitási vizsgálatok alapján, amelyek során az 5MTHF-Ca maximális napi dózist, azaz 400 és 1000 mg/kg testtömeg (tt) adtak, nem jelentkeztek káros hatások. Az AFC testülete megállapította, hogy az 5MTHF-Ca használata „folátforrásként adott táplálkozási célokra szolgáló élelmiszerekben, étrendkiegészítőkben és a széles körű fogyasztásra szánt élelmiszerekben, 1 mg/felnőtt/nap maximális tolerálható mennyiségben biztonsági szempontból nem jelent kockázatot.” A fenti megállapítás azon a feltételezésen alapszik, hogy az Élelmiszer Tudományos Tanács (SCF, 2000) által megállapított, a folsavra vonatkozó 1 mg/felnőtt/nap maximális tolerálható beviteli mennyiség a folsav és az 5MTHF-Ca (folsavra vonatkoztatott) kombinált fogyasztására is érvényes.

Az élelmiszer-kiegészítőként fogyasztott glükózamin általánosan javasolt napi beviteli mennyisége 1500 mg/nap (25 mg/ttkg/nap). Egészséges önkénteseken végzett vizsgálatok során nem mutattak ki káros mellékhatásokat hosszú távú hatékonyság tekintetében, illetve rövid távon, cukorbeteg önkénteseken sem.

2009-ben az EFSA NDA Bizottsága az *Aspergillus niger*-ből izolált és élelmiszer-összetevőként alkalmazott glükózamin-hidroklorid biztonságosságáról közölt egy tanulmányt, amelyben megállapították, hogy az *Aspergillus niger*-ből izolált glükózamin-hidroklorid biztonságos étrendkiegészítő felnőtt fogyasztók számára a javasolt, 750 mg glükózamin/nap mennyiségben történő fogyasztása esetén, azonban a cukorbeteg vagy glükóz-intoleráns pácienseknek fel kell keresniük a kezelőorvosukat a termék fogyasztása előtt. 2011-ben az NDA Bizottsága egy véleményben felhívta a figyelmet arra, hogy a kumarin-származék véralvadástgátlókat szedő páciensek egy másik kockázati csoportot jelentenek. Az ANS Bizottsága megállapította, hogy az 5MTHF-glükózaminból felszabaduló glükózamin javasolt felhasználása és beviteli szintje 0,8 mg/nap. A Bizottság szintén megállapította, hogy a jelen véleményben szereplő, a glükózamin javasolt felhasználása és beviteli szintjének betartása esetén bekövetkező maximális glükózamin-expozíció elhanyagolható az NDA szakvéleményében szereplő expozícióhoz képest, az *Aspergillus niger*-ből izolált glükózaminra vonatkozólag.

A Bizottság véleménye alapján az 5MTHF-glükózamin a javasolt felhasználása és beviteli szintje, amennyiben táplálkozási célból, élelmiszer-összetevőként, folátforrásként alkalmazzák, nem jelent biztonsági kockázatot.

A gyártási folyamat sajátosságai miatt a Bizottság megállapította, hogy az 5MTHF-glükózamin specifikációjának tartalmaznia kellene, hogy mikotoxinoktól mentes.

TARTALOMJEGYZÉK

Absztrakt.....	1
Tartalomjegyzék.....	4
Az Európai Bizottság által rendelkezésre bocsátott háttérinformáció.....	5
Az Európai Bizottság által rendelkezésre bocsátott hivatkozási alapok.....	5
Vizsgálat.....	6
1. Bevezetés.....	6
2. Technikai adatok.....	6
2.1. A vegyület azonosítása.....	6
2.2. Afolát(ok) definíciója.....	7
2.3. Specifikációk.....	7
2.4. Gyártási folyamat.....	8
2.5. Az élelmiszerben történő analízis módszerei.....	9
2.6. Reakció és végeredmény a forrással dúsított élelmiszerben.....	9
2.7. Szükséges és javasolt felhasználási módok.....	9
2.8. Információ a meglévő engedélyekről és értékelésekről.....	9
2.9. Expozíció.....	10
3. Biológiai és toxikológiai adatok.....	11
3.1. Biológiai hozzáférhetőség.....	11
3.1.1. 5MTHF-glükózamin.....	11
3.1.2. Glükózamin.....	12
3.2. Toxicológiai adatok.....	13
3.2.1. Az 5MTHF-glükózamin genotoxicitása.....	13
3.2.2. Az egyedi komponensekre vonatkozó toxikológiai adatok.....	14
4. Megbeszélés.....	14
Konklúziók.....	17
Az EFSA számára benyújtott dokumentumok.....	17
Referenciák.....	17
Rövidítések.....	20

AZ EURÓPAI BIZOTTSÁG ÁLTAL RENDELKEZÉSRE BOCSÁTOTT HÁTTÉRINFORMÁCIÓK

Az Európai Közösség jogszabályai felsorolják azokat a tápanyagokat, amelyeket bizonyos élelmiszerkategóriákban táplálkozási célokra lehet használni bizonyos tápanyagok forrásaként.

A Bizottság megkapta a (6S)-5-metiltetrahydrofolsav, glükózamin só táplálkozási célokra hozzáadott élelmiszer-kiegészítő kiértékelésére irányuló kérelmet. A vonatkozó Európai Uniói jogalkotási intézkedés a következő:

- Az Európai Parlament és a Tanács 2002/46/EK irányelve az étrend-kiegészítőkre vonatkozó tagállami jogszabályok közelítéséről⁴.
- Az Európai Parlament és a Tanács 258/97/EK rendelete az új élelmiszerekről és az új élelmiszer-összetevőkről⁵.

AZ EURÓPAI BIZOTTSÁG ÁLTAL RENDELKEZÉSRE BOCSÁTOTT HIVATKOZÁSI ALAPOK

A 178/2002/EK rendelet 29. cikke (1) bekezdésének a) pontjával összhangban az Európai Bizottság felkéri az Európai Élelmiszer-biztonsági Hatóságot, hogy:

- a 258/97/EK rendelettel összefüggésben végezze el a (6S)-5-metiltetrahydrofolsav, glükózamin só, mint az élelmiszer-kiegészítőkhöz táplálkozási céllal hozzáadott folsavforrás kiértékelését, valamint
- készítsen szakvéleményt a (6S)-5-metiltetrahydrofolsav, glükózamin só biztonságosságáról, amikor táplálkozási célokra táplálékkiegészítőként, folsavforrásként szerepel, és az ebből a forrásból származó folsav biológiai felhasználhatóságáról.

⁴ OJ L 183, 12.7.2002, 51. oldal

⁵ OJ L 43, 12.2.97, 1. oldal

VIZSGÁLAT

1. Bevezetés

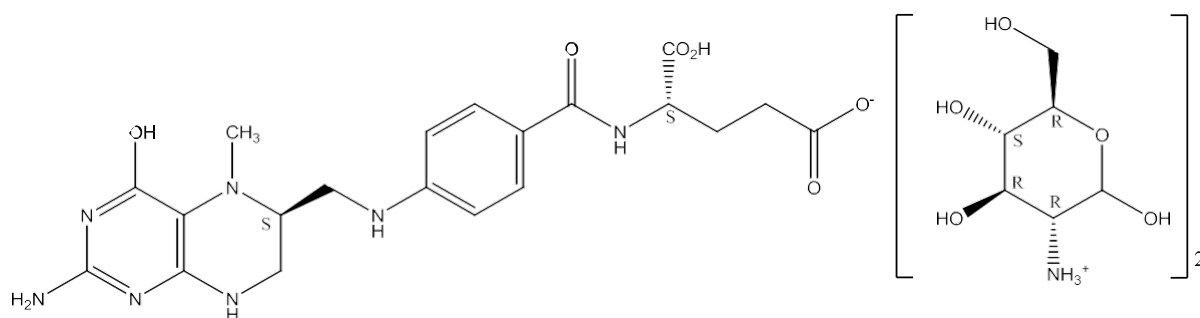
Jelen szakvélemény a (6*S*)-5-metiltetrahidrofolsav, glükózamin só (5MTHF-glükózamin) biztonságosságára vonatkozik, abban az esetben, amikor táplálkozási célokra élelmiszer-kiegészítőként folsavforrásként adják hozzá az élelmiszerekhez, és az ebből a forrásból származó folsav biológiai felhasználhatóságát is vizsgálja. A folsav biztonságossága az elfogyasztható mennyiségek tekintetében nem tartozik az ANS Bizottság hatáskörébe. Az NDA Bizottsága 2015-ig fog javaslatot tenni a népesség foláttal kapcsolatos referencia beviteli mennyiségére vonatkozóan (EFSA-Q-2011-01212). Az 5MTHF-glükózamin biztonságosságát a 258/96/EK rendelettel⁶ összhangban az új élelmiszerek vonatkozásában az ANS Bizottsága megvizsgálta. Ez azért van, mert az 5MTHF-glükózamin teljesen disszociál az emésztőrendszerben a két komponensére, (6*S*)-5-metiltetrahidrofolsavra és glükózaminra, amelyek nem minősülnek új élelmiszereknek.

2. Technikai adatok

2.1. A vegyület azonosítása

A (6*S*)-5-metiltetrahidrofolsav, glükózamin só (5MTHF-glükózamin) kémiai neve *N*-[4-[[[(6*S*)-2-amino-1,4,5,6,7,8-hexahidro-5-metil-4-oxo-6-pteridinil]metil]amino]benzoil]-*L*-glutaminsav, glükózamin só. Kémiai képlete: C₃₂H₅₁N₉O₁₆, vízmentes molekulatömege 817,80 g/mol és 'Chemical Abstracts Service' (CAS) regisztrációs száma 1181972-37-1.

Az 5MTHF, glükózamin só szinonimái: *L*-glutaminsav, *N*-[4-[[[(6*S*)-2-amino-3,4,5,6,7,8-hexahidro-5-metil-4-oxo-6-pteridinil]metil]amino]benzoil]-, vegyület 2-amino-2-deoxi-*D*-glükózzal (1:2); (6*S*)-*L*-5-metiltetrahidrofolsav, glükózamin só, és (6*S*)-5-metilfolát, glükózamin só. Kémiai szerkezete az 1. ábrán látható.



1. ábra: Az 5MTHF-glükózamin kémiai szerkezete

Az 5-Metiltetrahidrofolsav két királis szénatomot tartalmaz: a 6. pozícióban lévő, a pteroil funkciós csoport C-atomja, valamint az α -C atom a glutaminsav molekuláris részben. A tetrahidrofolsav és az 5-helyettesített származékainak természetes körülmények között is megtalálható izomerjei a (6*S*, α *S*) és (6*R*, α *S*) diasztereoizomerek. A redukált folátok természetes formája elsősorban a (6*S*) diasztereoizomer, ami nagyobb biológiai aktivitással rendelkezik, mint a (6*R*) izomer (SCF, 2000). Az 5MTHF-glükózamin, a specifikációk alapján, a 6*S*, α *S* konfigurációval rendelkezik.

Az 5MTHF-glükózamin krémszínű vagy világosbarna por, ami 25 °C-on vízben nagymértékben oldható, híg savakban és lúgokban is oldódik, azonban szerves oldószerekben nem oldódik.

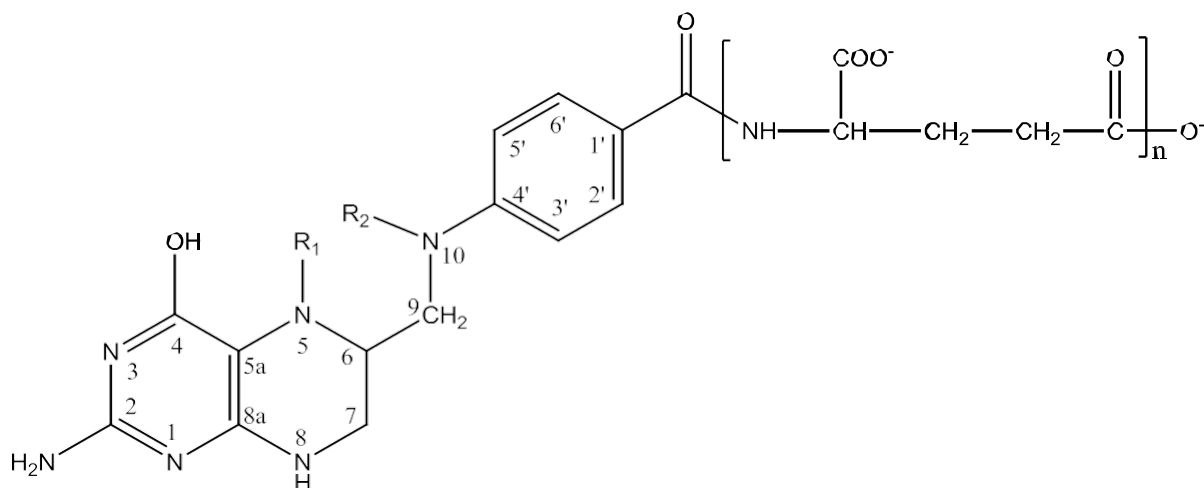
A molekula azonosításához szükséges infravörös (IR), ultrabolya (UV), nukleáris mágneses rezonancia (NMR) és tömegspektrometriás (MS) spektrumokat a kérelmező rendelkezésre bocsátotta.

⁶ Az Európai Parlament és a Tanács 258/97/EK rendelete (1997. január 27.) az új élelmiszerekről és az új élelmiszer-összetevőkről. OJ L 43, 14.2.97, 1. oldal

2.2. A folát(ok) definíciója

Jelen szakvéleményben a „folát(ok)” kifejezést a tetrahydrofolsav, valamint minden, természetes körülmények között előforduló N5 és/vagy N10 szubsztituált (metil, metilén, metenil, formil és formimino) tetrahydrofolsav-vegyületre és valamennyi sztereoizomerjére, illetve azokra a vegyületekre értjük, amelyek a fenti vegyületekké alakulnak a metabolizmus során (pl. folsav).

A folátok általános szerkezeti képlete a 2. ábrán látható.



	R₁	R₂
Tetrahydrofolsav	H	H
5-Metiltetrahydrofolsav	-CH ₃	H
5,10-Metiléntetrahydrofolsav (R ₁ -R ₂ gyűrű záródás)		-CH ₂ -
5,10-Meteniltetrahydrofolsav (R ₁ -R ₂ gyűrű záródás)		-CH-
5-Formiltetrahydrofolsav	-HC=O	H
10-Formiltetrahydrofolsav	H	-HC=O
5-Formiminotetrahydrofolsav	-HC=NH	H

2. ábra: A folátok általános szerkezeti képlete

A folátok a B-vitaminok csoportjába tartoznak.

2.3. Specifikációk

Az 1. táblázat foglalja össze az 5MTHF-glükózamin specifikációit a kérelmező javaslatai alapján.

Az 5MTHF-glükózamin három tételének elemzése azt mutatta, hogy az alábbiakban leírt gyártási eljárással előállított anyag konzisztens és megfelel a javasolt előírásoknak.

1. táblázat: A (6S)-5-metiltetrahydrofolsav, glükózamin só (5MTHF-glükózamin) specifikációi, a kérelmező által javasolt értékekkel

Tulajdonság	Határértékek
Megjelenés	Krémszínű vagy világosbarna por
Azonosítás (IR)	Pozitív
Víztartalom	≤ 8,0 %
Glükózamin assay (HPLC)	34 - 46 % d.b.
5-Metiltetrahydrofolsav assay (HPLC)	54 - 59 % d.b.
(6S)-5-Metiltetrahydrofolsav (HPLC)	≥ 99,0 %
Összes szennyező (HPLC)	≤ 2,5 %
Rokon vegyületek (HPLC):	
4-Aminobenzoil-glutaminsav (ABGA)	≤ 0,3%
4α-Hidroxi-5-metiltetrahydrofolsav (HOMeTHFA)	≤ 1,0%
(6S)-Pirazino-s-triazin származék [(6S)-Mefox]	≤ 0,3 %
5-Metiltetrahydropteroinsav (MeTHPA)	≤ 0,3 %
Bármilyen egyedi szennyeződés (HPLC)	≤ 1,0 %
Etanoltartalom*	≤ 0,5 %
Ólom	≤ 2,0 mg/kg
Kadmium	≤ 1,0 mg/kg
Higany	≤ 0,1 mg/kg
Arzén	≤ 2,0 mg/kg
Bór	≤ 10 mg/kg
Mikrobiológiai kritériumok	
Teljes aerob mikroba szám	≤ 10 ² CFU/g
Teljes kombinált élesztő és gomba	≤ 10 ² CFU/g
<i>E. coli</i>	Nincs jelen/10 g

*Az etanoltartalom csak akkor kerül meghatározásra, ha a terméket etanolban történő kicsapással izolálják.

HPLC, high-performance liquid chromatography (nagy teljesítményű folyadék-kromatográfia); d.b, dry basis (szárazanyag); CFU, colony-forming unit (kolónia-formáló egység)

A gyártási folyamatot figyelembe véve a Bizottság megjegyezte, hogy az 5MTHF-glükózamin specifikációi nem mutatnak jelzést a mikotoxinok hiányára.

2.4. Gyártási folyamat

Az 5MTHF-glükózamin előállítása a folsavból (CAS-szám: 59-30-3) kémiai szintézis útján történik, nátrium-tetrahydroboráttal történő redukálással, a kapott tetrahydrofolsav formaldehiddel történő kondenzációjával és a képződött 5,10-metiléntetrahydrofolsav redukálásával (6R,S)-5-metiltetrahydrofolsavvá nátrium-tetrahydroboráttal. A racém elegy tisztítását kristályosítási eljárásokkal végzik, így tiszta (6S)-5-metiltetrahydrofolsav nyerhető. A glükózamin-só kialakítása glükózamin-hidroklorid felhasználásával történik. A végtermék liofilizálással vagy etanolban történő kicsapással állítható elő.

A kérelmező állítása szerint az 5MTHF-glükózamin glükózamin összetevője a glükózamin-hidrokloridból (CAS-szám: 66-84-2) származik, amit az *Aspergillus niger* meghatározott törzsből izolált kitenből állítanak elő, és Egyesült Államok Gyógyszerkönyv (USP) / National Formulary (NF) fokozatú. A kérelmező azt állítja, hogy a kérdéses törzset az NDA Bizottság már értékelte (EFSA, 2009), és nem termel ochratoxin A-t.

A (6S)-5-metiltetrahydrofolát (5MTHF) és a glükózamin tartalmat az 5MTHF-glükózamin készítményekben, valamint az 5MTHF diasztereoizomer tisztaságát három különálló, nagy teljesítményű folyadékkromatográfias (HPLC) módszerrel lehet meghatározni. Három független gyártási tétel eredményeit a kérelmező benyújtotta.

A Bizottság megjegyezte, hogy a vizsgálati módszertan megfelelő volt, és a végtermék megfelel a kérelmező által javasolt specifikációknak (1. táblázat).

2.5. Az élelmiszerben történő analízis módszerei

Az étrend-kiegészítők (tabletták) 5MTHF és glükózamin-tartalmát külön validált laboratóriumi HPLC/UV módszerekkel határozzák meg. Az 5MTHF vizsgálatára szolgáló assay alkalmas a folsav degradációs termékeinek kimutatására is.

2.6. Reakció és végeredmény a forrással dúsított élelmiszerben

Az 5MTHF és glükózamin stabilitását az 5MTHF-glükózamin készítményekben, vagy amikor az 5MTHF-glükózamin egy multivitamin tabletták készítményben szerepelt összetevőként, a kérelmező határozta meg. Szobahőmérsékleten mind az 5MTHF, mind a glükózamin legalább 18 hónapig stabil maradt (mint 5MTHF-glükózamin) és a stabilitása legalább 12 hónap volt, amikor multivitamin tablettában szerepelt.

2.7. Szükséges és javasolt felhasználási módok

Az 5MTHF-glükózamint alternatív folsavforrásként javasolják alkalmazni a táplálékkiegészítők (tabletták) gyártásában a 2002/46/EK irányelv alapján.⁷ Javasolt dózisa legfeljebb 1,8 mg/nap, vitaminban, multivitaminban, valamint vitamin- és nyomelem-tablettákban, mint folsavforrás.

A kérelmező szerint az 5MTHF-glükózamin 5MTHF-tartalma legfeljebb 59 tömeg%. Ahhoz, hogy a folsav és az 5MTHF-glükózamin esetében a folát (5MTHF) ugyanazon moláris dózist kapjunk, az 5MTHF-glükózamint a folsavra vonatkoztatott szint 185%-ában kell alkalmazni a tömeg alapján. Az ajánlott 400 µg folsav/nap dózisszint mellett ez 416 µg 5MTHF vagy 740 (741) µg 5MTHF-glükózaminnak felel meg. A két forrás különböző molekulatömege alapján 1,8 mg 5MTHF-glükózamin 1 mg folsavnak felel meg.

2.8. Információ a meglévő engedélyekről és értékelésekről

Az 5MTHF-glükózamin új élelmiszerként korábban még nem került kiértékelésre, kivéve az Írországi Élelmiszerbiztonsági Hatóságot (FSAI).

Az FSAI az 1.1. osztályba sorolt új élelmiszer-összetevőnek tekintette. Ebbe az osztályba tartoznak azok az élelmiszerek és élelmiszer-összetevők, amelyek olyan, egyetlen kémiai meghatározott anyagból vagy ezek keverékéből állnak, amelyeket nem olyan növényekből, állatokból vagy mikroorganizmusokból állítanak elő, amelyeket genetikailag módosítottak, és az új élelmiszerek forrása a Közösségben táplálkozás céljából történő hagyományokkal rendelkezik (97/618/EK ajánlás⁸).

Az 5MTHF (kalcium-só formájában történő felhasználás esetén) élelmiszer-kiegészítőként történő felhasználásra engedélyezett (az 1170/2001/EK európai bizottsági rendelettel módosított 2002/46/EK irányelv alapján⁹).

A (6S)-5-metiltetrahydrofolsav, kalcium-só (5MTHF-Ca), másnéven „kalcium-L-metilfolát” biztonságosságát az élelmiszer-adalékanyagok, aromaanyagok, feldolgozószerek és az élelmiszerekkel érintkező anyagok tudományos bizottsága (AFC Bizottság) értékelte ki 2004-ben (EFSA, 2004), és bekerült az 1170/2009/EK bizottsági rendelettel módosított 2002/46/EK irányelv II. mellékletébe mint

⁷ Az Európai Parlament és a Tanács 2002/46/EK irányelve (2002. június 10.) az étrend-kiegészítőkre vonatkozó tagállami jogszabályok közelítéséről. OJ L 183, 12.7.2002, 51. oldal

⁸ A Bizottság 1997. július 29-i ajánlása az új élelmiszerek és az új élelmiszer-összetevők forgalomba hozatalának támogatásához, valamint a 258/97/EK európai parlamenti és tanácsi rendelet szerinti kezdeti értékelő jelentések elkészítéséhez szükséges információk tudományos szempontjairól és bemutatásáról. OJ L 253, 16.9.97, 1. oldal

⁹ A Bizottság 1170/2009/EK rendelete (2009. november 30.), amely a 2002/46/EK európai parlamenti és tanácsi irányelvet és az 1925/2006/EK európai parlamenti és tanácsi rendeletet módosítja, a vitaminok, nyomelemek és formáik jegyzékéről, amelyek hozzáadhatók az élelmiszerekhez, beleértve az étrend-kiegészítőket is. OJ L 314, 1.12.2009, 36. oldal

új folátforrás. Az 5MTHF-Ca-t csak különleges táplálkozási célú élelmiszerekben, kizárólag diétás élelmiszerekben (953/2009/EK bizottsági rendelet) engedélyezték.¹⁰

Az AFC Bizottság arra a következtetésre jutott, hogy az 5MTHF-Ca folsavforrásként való használata különleges táplálkozási célú élelmiszerekben, az élelmiszer-kiegészítőkben és az általános népesség számára szánt élelmiszerekben biztonsági szempontból nem jelent kockázatot (EFSA, 2004). Ez a következtetés azon a feltételezésen alapult, hogy az SCF (2000) által megállapított 1 mg/felnőtt személy/nap folsav tolerálható maximális beviteli szintje a folsav és az 5MTHF-Ca együttes bevitelére is vonatkozik (folsavban kifejezve). A tervezett felhasználási szintekből adódó 5MTHF-Ca beviteli becsléseket nem jelentették, és azt állították, hogy az 5MTHF-Ca-ot a folsav részleges vagy teljes helyettesítésére szánták. Jelezték továbbá, hogy az 5MTHF-Ca engedélyezése esetén, mint a folsav alternatív formája, nem fogja tovább növelni az élelmiszer-kiegészítő folátok teljes bevitelét (EFSA, 2004).

Az 5MTHF-Ca biztonságosságát a FAO/WHO Közös Élelmiszer-adalékanyag Szakértői Bizottsága értékelte ki (JECFA, 2006). A JECFA az 5MTHF-Ca folsav-helyettesítőként javasolt alkalmazását értékelte, de nem foglalkozott a folsav-dúsítás és -kiegészítés biztonságosságának kiértékelésével. A Bizottság arról számolt be, hogy nem lát kockázatot az 5MTHF-Ca száraz kristályos vagy mikrokapszulázott formában javasolt felhasználásának biztonságosságával kapcsolatban a folsav alternatívájaként az étrend-kiegészítőkben, a különleges táplálkozási célú élelmiszerekben és egyéb élelmiszerekben történő alkalmazása esetén.

Az 5MTHF-Ca biztonságosságát az Ausztrália Új-Zéland élelmiszer-szabványai is értékelték. Arra a következtetésre jutottak, hogy az 5MTHF-Ca használata bizonyos élelmiszerek dúsítása céljából nem járna közegészségügyi vagy biztonsági aggályokkal (FSANZ, 2008).

A glükózamin-szulfát az EK Új élelmiszer-katalógusában¹¹ is szerepel, 1997. május 15. előtt kizárólag élelmiszer-kiegészítőként vagy élelmiszer-kiegészítő részeként használt termékként.

2009 júniusában az EFSA kiadott egy, a diétás termékek, táplálkozás és allergiák tudományos bizottsága (NDA) által készített Szakvéleményt az *Aspergillus niger*-ből származó glükózamin-hidroklorid, mint új élelmiszer-összetevő biztonságosságáról. Az NDA Bizottság ekkor arra a következtetésre jutott, hogy az RGHAN (az *Aspergillus niger*-ből származó glükózamin-hidroklorid) a felnőtt fogyasztók élelmiszer-összetevőjeként biztonságos volt a javasolt napi 750 mg glükózamin beviteli szint mellett, de a cukorbetegséggel vagy glükóz-intoleranciával rendelkező fogyasztóknak ajánlott a fogyasztása előtt orvoshoz fordulniuk (EFSA, 2009).

2011-ben az EFSA kiadta az NDA Bizottság nyilatkozatát a glükózamin biztonságosságáról a kumarin antikoagulánsokat kapó betegek számára. Az NDA Bizottság arra a következtetésre jutott, hogy bizonyos személyek esetében bizonyítottan kimutatható volt a glükózamin és kumarin antikoagulánsok közötti kölcsönhatás, ami a vérzés kockázatának növekedéséhez vezethet. A kockázat szintjét nem lehetett megállapítani az elégtelen adatok miatt (EFSA NDA Bizottság, 2011).

2.9. Expozíció

A kérelmező szerint az 5MTHF-glükózamin a vitamin, a multivitamin, vitamin- és nyomelemtabletták alternatív folsav-forrása lehet. Az 5MTHF-glükózamin étrend-kiegészítőkre vonatkozó javasolt napi bevitel 1,8 mg, ami megegyezik 1 mg 5MTHF és 0,8 mg glükózaminnal egy főre vonatkoztatva. Az SCF megállapítása szerint felnőttek esetében a folsav legmagasabb tolerálható dózisa 1 mg/fő/nap (SCF, 2000).

¹⁰ A Bizottság 953/2009/EK rendelete (2009. október 13.) a különleges táplálkozási célokra szolgáló élelmiszerekhez hozzáadható anyagokról. OJ L 269, 14.10.2009, 9. oldal

¹¹ http://ec.europa.eu/food/food/biotechnology/novelfood/nfnetweb/mod_search/index.cfm?action=mod_search.details&seqfc=300, http://ec.europa.eu/food/food/biotechnology/novelfood/nfnetweb/mod_search/whatimage.cfm?img=

3. Biológiai és toxikológiai adatok

3.1. Biológiai felhasználhatóság

3.1.1. 5MTHF-glükózamin

A kérelmező nem nyújtott be adatokat az 5MTHF-glükózaminból felszabaduló folsav állatkísérletekben meghatározott biológiai hasznosíthatóságáról.

A Bizottság megjegyezte, hogy az állatokban a folsav biológiai hasznosíthatóságára vonatkozó vizsgálatokat bonyolíthatja a koprofágia jelensége, valamint az élelmiszer-összetevők hatásai (Abad és Gregory, 1987), ezért ezeknek a tényezőknek az ellenőrzése nélkül a folátokkal végzett állatkísérletek eredményei nem feltétlenül relevánsak emberben.

Bhandari és Gregory (1992) azonban 200 g-os hím Crl:CDR BR patkányokon végzett kísérletekről számolt be, amelyekben a patkányok orálisan kaptak triciált folsavat, 5MTHF-t vagy 5-formil-tetrahydrofolátot. Az állatokat egy éjszakán át éhezették, az ürüléküket pedig elemzés céljából összegyűjtötték, ezáltal jelentősen csökkentve a koprofágiából fakadó komplikációkat. Mindegyik vegyület 8 órán belül szinte teljesen felszívódott, és nem volt szignifikáns különbség a kiválasztási kinetikában a folsav alkalmazott beviteli forrasi között. A következő 8 nap alatt kétfázisú kiválasztási mintázat volt megfigyelhető. A vizelet és a széklet egyaránt fontos elválasztási útvonalként szerepelt. A teljes izotópos kiválasztás (vizelet és ürülék) gyors fázisa 0,11-0,12 nap felezési idővel volt jellemezhető ($t_{1/2}$), míg a lassabb fázis $t_{1/2}$ értéke 13,4 - 15,9 nap volt. Az izotóp eloszlása és a jelzett folátok mintázata a vizeletben és a szövetekben hasonló volt, a beadott formától függetlenül. A szerzők szerint a folsav, az 5MTHF és az 5-formil-tetrahydrofolát egyenértékű bélabszorpciót, metabolizmust és *in vivo* kinetikát mutatott.

Gregory és mtsai. (1992) a folsav, a tetrahydrofolát, az 5-formil-tetrahydrofolát, a 10-formil-tetrahydrofolát és az 5-MTHF monoglutamil formáinak orális biológiai hasznosíthatóságát vizsgálták stabil izotóp-jelölési módszerekkel. Éheztetett felnőtt férfiaknak ($n = 7$) folsav telítési kezelést (2 mg/nap 7 napon keresztül az egyes vizsgálatok előtt, amire a szerzők szerint a jelzett folátok kiválasztódásának fokozása céljából volt szükség) követően, egyszeri orális dózist kaptak mindegyik folátból, almalében oldva (olyan koncentrációban, amely várhatóan nem telítette a lúminális felvételi mechanizmust), illetve intravénás folsav-injekciót kaptak kontrollként. A szerzők arra a következtetésre jutottak, hogy emberben a monoglutamil-folátok biológiai hasznosíthatóságának tekintetében különbségek vannak. A Bizottság ugyanakkor megjegyezte, hogy a folsav és az 5MTHF vizelet útján történő átlagos kiválasztása (az adagolás után 0 - 48 óra) nem volt szignifikánsan különböző.

Venn és mtsai. (2002) a folsav-szintet a fogamzóképes korú nők körében (18-49 év) vizsgálták meg egy randomizált, placebo-kontrollos, kettős vak vizsgálatban. A (6S)-5-MTHF és a folsav-kiegészítés hatásait követték 24 héten keresztül a plazma folsav-szintre és a vörösvérsejtekben lévő folát szintjére (RCF). A nőket ($n = 104$) véletlenszerűen sorolták be csoportokba, és (6S)-5-MTHF-t (113 µg/nap), folsavat (100 µg/nap) vagy placebót kaptak. A plazma folátkoncentráció átlagos becsült lineáris növekedése 0,3 (95% -os konfidencia intervallum (CI) 0,1 - 0,5) és 0,4 (95% CI 0,2 - 0,6) nmol / (l. hét) volt a (6S)-5-MTHF és a folsav csoportokban. Az RCF átlagos becsült lineáris növekedése 7,4 (95% CI 4,5 - 10,3) és 8,3 (95% CI 4,4 - 12,3) nmol / (l. hét) volt a (6S)-5-MTHF és folsav csoportokban. 24 hét elteltével a plazma folát-koncentráció becsült átlagos növekedése 6,9 (95% CI 1,7 - 12,2) és 9,2 (95% CI 3,3 - 15,1) nmol/l, az RCF esetén pedig 251 (95% CI 143 - 360) és 275 (95% CI 148 - 402) nmol/l volt a (6S)-5-MTHF és folsav csoportokban, a placebo csoporthoz viszonyítva. A szerzők arra a következtetésre jutottak, hogy az alacsony dózisu (6S)-5-MTHF és a folsav-kiegészítés hasonló mértékben növelte a vér folsav-indexeit.

A JECFA (2006) egy olyan humán vizsgálatot végzett, amelyben ³H- és ¹⁴C-folsavat adtak orálisan, és a szintetikus folsav biológiai hasznosíthatóságát 90-95%-ra becsülték.

A JECFA (2006) egy másik olyan vizsgálatról is beszámolt, amelyben 5MTHF-Ca-mal végeztek vizsgálatot az emberekben, és arra a következtetésre jutottak, hogy az abszorpció után az 5MTHF nem

különböztethető meg az egyéb abszorbeált és metabolizált természetes folsavoktól vagy a szintetikus folsavból képződött 5MTHF-től. Az 5MTHF-Ca és a szintetikus folsav biológiai hasznosíthatóságát (400 µg/nap/fő, mint folsav) egy randomizált, kettős vak, keresztezett vizsgálatban 21 egészséges nő esetében hasonlították össze, és hasonlóknak találták.

A JECFA arra a következtetésre jutott, hogy az 5MTHF-Ca-ból származó folsav biológiai hasznosíthatósága hasonló volt a folsavból származó folát biológiai hasznosíthatóságához emberben, és hogy a szintetikus 5MTHF-Ca ugyanolyan útvonalon metabolizálódott, mint az egyéb felszívódott természetes folátok (JECFA, 2006).

Egy keresztezett, összehasonlító biológiai hasznosíthatósági vizsgálatot végeztek humán önkénteseknél, amelyben az 5MTHF-glükózaminból felszabaduló folsav biológiai hasznosíthatóságát az 5MTHF-Ca-ból származó folsavéval hasonlították össze, egyszeri orális expozíció után (valamint mindkét esetben 400 µg folsav együttes adásával). 400 µg 5MTHF-glükózamin vagy 5MTHF-Ca (szabad 5MTHF-ben kifejezett) dózist választottak, mivel az megfelel az étrend-kiegészítőként javasolt napi adagnak (Technikai dokumentáció, 2012).

Huszonnégy egészséges férfit és nőt (egy résztvevő kilépett az engedélyezés visszavonása miatt, körülbelül egy órával az első beadási időszak után), életkor: 18 és 55 év között, testtömeg-index (BMI): 18 és 30 között. Az alanyokat véletlenszerűen a vizsgálat valamelyik ágára rendelték egy legalább 7 napos kimosási periódus előtt, majd a vizsgálat másik ágára keresztezték őket. A plazma folsav-szinteket minden orális beadás után 12 órán belül határozták meg.

Az 5MTHF-glükózamin beadása után a folátok átlagos C_{max} -értéke $80,40 \pm 18,694$ nmol/l volt, míg az 5MTHF-Ca beadása után ez az érték $85,29 \pm 28,457$ nmol/l volt. Az 5MTHF-glükózamin beadását követően a folátok átlagos plazma felezési ideje $8,41 \pm 3,887$ óra volt, szemben az 5MTHF-Ca beadását követő $7,53 \pm 3,805$ órával.

Nem észleltek szignifikáns különbséget a folát plazmaszintjében az 5MTHF-glükózamin és az 5MTHF-Ca-t kapott résztvevők között (Technikai dokumentáció, 2012).

A Bizottság véleménye alapján az 5MTHF-glükózaminból származó folsav biológiai hasznosíthatósága hasonló az 5MTHF-Ca-ból származó folsav biológiai hasznosíthatóságához emberben.

A Bizottság azt is figyelembe vette, hogy az 5MTHF-glükózamin az emésztőrendszer vizes környezetében 5MTHF-re és glükózaminra bomlik. Az 5MTHF ezért várhatóan ugyanúgy szívódik fel a vékonybélben, mint az az 5MTHF, amely a táplálékforrásokból vagy az 5MTHF-Ca-ból származik.

3.1.2. Glükózamin

A glükózamin-6-foszfát fruktóz-6-foszfátból és glutaminból endogén módon jön létre. Emberben a glükózamin endogén termelése körülbelül 4 - 20 g/nap, a medián kb. 14 g/nap vagy 230 mg/ttkg/nap, egy 60 kg-os felnőtt esetében (EFSA, 2009).

Patkányokon (Aghazadeh-Habashi és Sattari, 2002), kutyákon (Setnikar et al., 1986) és humán önkénteseken (Setnikar et al., 1993; Setnikar és Rovati, 2001) végzett vizsgálatok adatai azt sugallják, hogy a glükózamin biológiai hasznosíthatósága a különböző fajok között hasonló, és a hogy a glükózamin analóg úton metabolizálódik. A szerzők szerint tehát a patkányok és kutyák megfelelő modellszervezetek a glükózamin biztonságosságának megállapításához emberben (Setnikar és Rovati, 2001).

Orális adagolás után a glükózamin kimutatható a legtöbb vizsgált szövetben, beleértve a májat, a vesét és az ízületi porcot. Az orálisan beadott glükózamin kb. 90%-a abszorbeálódik, a májban a jelentős része az első körben metabolizálódik. A glükózamin vérszintje az orális glükózamin adagolás után az intravénás adagolás 20%-a volt (Setnikar és Rovati, 2001; Aghazadeh-Habashi és Sattari, 2002; IOM, 2003).

3.2. Toxikológiai adatok

A kérelmező a genotoxicitási adatok kivételével nem szolgáltatott toxikológiai adatokat az 5MTHF-glükózaminra vonatkozóan.

A biológiai hasznosíthatósági adatok alapján a Bizottság úgy ítélte meg, hogy az 5MTHF-glükózamin valószínűleg az egyes felépítő ionokra disszociál, ezért az 5MTHF-glükózamin toxicitásának vizsgálata az egyes összetevők (5MTHF és glükózamin) vizsgálata alapján is elfogadható.

3.2.1. Az 5MTHF-glükózamin genotoxicitása

Az 5MTHF-glükózaminra vonatkozó *in vitro* genotoxicitási vizsgálatokat a kérelmező végezte el a gyártási folyamat során esetlegesen keletkezett szennyeződések genotoxicitásának vizsgálatára.

Az 5MTHF-glükózamin mutagén aktivitását az Ames-teszt segítségével vizsgálták, öt teszter törzset használva - *Salmonella typhimurium* TA1535, TA1537, TA98 és TA100, valamint *Escherichia coli* WP2 uvrA - metabolikus patkány máj S9 aktiválásának hiányában vagy jelenlétében, az OECD 471 irányelve szerint. A genotoxicitást plate inkorporációs assay-vel és pre-inkubációs assay-vel vizsgálták. Az S9 anyagcsere hiányában vagy jelenlétében egyetlen teszter törzs esetében sem mutattak ki citotoxicitást. Az 5MTHF genotoxicitását a következő koncentrációkban vizsgálták: 313, 625, 1250, 2500 és 5000 µg / plate. Az 5MTHF-glükózamin nem indukált reverz mutációt *S. typhimuriumban* vagy *E. coli*-ban az alkalmazott vizsgálati körülmények között (Technikai dokumentáció, 2012).

Az 5MTHF-glükózamin mutagén hatását az 5-trifluor-timidin-rezisztens mutánsok indukciójának vizsgálatával tesztelték egér limfóma L5178Y sejtekben, az S9 metabolikus aktiváció hiányában és jelenlétében, az OECD 476. iránymutatásának megfelelően. Egy előzetes citotoxicitási assayt végeztek el. Az S9 metabolizmus jelenlététől függetlenül 3 óra elteltével nem figyeltek meg citotoxicitást az 5000 µg/ml maximális koncentrációig. 24 órás kezelés után S9 metabolikus aktiváció hiányában 5000 µg/ml koncentrációban nem éltek túl sejtek. Toxicitást 2500 µg/ml és 1250 µg/ml érték esetében figyeltek meg, amelyek rendre 15% és 38%-ra csökkentették a túlélést. Az előzetes vizsgálat során kapott toxicitási eredmények alapján két független vizsgálatot végeztek az 5-trifluor-timidin-rezisztencia mutációjára 78,1 és 5000 µg/ml közötti különböző dóziszintek alkalmazásával, és a magasabb koncentrációkat csak 3 óra után vizsgálták. Az 5MTHF-glükózamin-kezelés után az S9 metabolizmus jelenlététől függetlenül nem figyeltek meg releváns mutációs gyakoriságnövekedést. Az 5MTHF-glükózamin tehát nem indukált mutációt az L5178Y egér limfóma sejtekben S9 metabolikus aktiváció jelenlététől függetlenül, az alkalmazott vizsgálati körülmények között (Technikai dokumentáció, 2012).

Az 5MTHF-glükózamin kromoszóma-rendellenességet kiváltó képességét a kínai hörcsög petefészek (CHO) sejtekben vizsgálták S9 metabolikus aktiváció hiányában és jelenlétében 39,1, 78,1, 156, 313, 625, 1250, 2500 és 5000 µg/ml koncentrációban, az OECD 476. iránymutatásának megfelelően. A sejteket 3 órán át kezelték és 20 óra elteltével gyűjtötték össze, vagy – S9 hiányában – 20 órán át folyamatosan kezelték. A nagy dózisú csoportokból származó száz metafázis-szórást a kromoszóma-rendellenességek tekintetében értékelték. Az 5MTHF-glükózamin S9 hiányában, a 3 órás kezelés esetében, enyhe növekedést okozott a rendellenességet hordozó sejtek számában, résekkal vagy anélkül, de a statisztikai szignifikancia határát a változások nem érték el. Az S9 anyagcsere jelenlétében, vagy anélkül végzett folyamatos 20 órás kezelés esetében nem figyeltek meg a rendellenes sejtek előfordulási gyakoriságának növekedését (résekkal vagy anélkül) egyik dózis esetén sem. Az endoreduplikált sejtek számának növekedését figyeltek meg az S9 metabolizmus jelenlétében az 5000 µg/ml dóziszint mellett. Az 5MTHF-glükózamin tehát nem indukált kromoszóma-aberrációt a CHO-sejtekben *in vitro* kezelés után, az alkalmazott vizsgálati körülmények között (Technikai dokumentáció, 2012).

Összességében megállapítható, hogy az 5MTHF-glükózamin forrás nem okozott aggályokat a genotoxicitás tekintetében.

3.2.2. Az egyedi komponensekre vonatkozó toxikológiai adatok

3.2.2.1. 5MTHF

A Bizottság megjegyezte, hogy az EFSA AFC testülete már kiértékelte az 5MTHF-Ca alkalmazását különleges táplálkozási célú élelmiszerekben, étrend-kiegészítőkben és az általános népesség részére szánt élelmiszerekben (EFSA, 2004). A vizes közegben az 5MTHF-Ca gyorsan és teljes mértékben disszociál kalcium- és 5MTHF-ionokká (EFSA, 2004). A Bizottság álláspontja szerint az 5MTHF-glükózamin az 5MTHF-Ca-hoz hasonlóan teljes mértékben hidrolizálódik, és az emésztőrendszerben felszabadulnak belőle az 5MTHF-ionok.

Az AFC Bizottság korábban már kiértékelte az 5MTHF-Ca-val végzett, de nem publikált szubkrónikus és fejlődési toxicitási vizsgálatokat (EFSA, 2004). Egy szubkrónikus toxicitási vizsgálatban Wistar patkányokat (10 állat nemenként és csoportonként, életkor nem ismert) orálisan 5MTHF-Ca-val etettek 0, 25, 100 vagy 400 mg/ttkg/nap dózisban, 13 napig. Nem figyeltek meg kezeléssel összefüggő hatásokat (Hamman et al., 2001). Egy fejlődési vizsgálatban a nőtény Wistar patkányokat (25 patkány csoportonként) orálisan kezelték 0, 100, 300 vagy 1000 mg 5MTHF-Ca/ttkg/nap dózissal, az 5. és 19. vemhességi nap között. Magzati, anyai vagy fejlődési toxicitás nem volt megfigyelhető (Schubert és Jacobs, 2003).

3.2.2.2. Glükózamin

Az EFSA 2009 júniusában közzétette az NDA Bizottság szakvéleményét az *Aspergillus niger* eredetű glükózamin-hidroklorid, mint új élelmiszer-összetevő biztonságosságáról (EFSA, 2009). A hím és nőtény patkányokon végzett akut orális toxicitási vizsgálatban a glükózamin-hidroklorid (99%-os tisztaság) nem okozott káros hatásokat 5000 mg/ttkg adagolása után. Egy 52 hétig tartó, patkányokon végzett vizsgálatban a szabad bázisú glükózamin esetén a mellékhatást még nem okozó dózisszint (NOAEL) 2130 mg/ttkg/nap volt. Az NDA Bizottság megjegyezte, hogy a glükózamin általánosan ajánlott napi bevétele étrend-kiegészítő formában 1500 mg/nap (25 mg/ttkg/nap), és a humán vizsgálatok nem mutattak káros hatást sem hosszú távú vizsgálatokban egészséges egyéneknél, sem cukorbetegeken végzett rövid távú vizsgálatokban (EFSA, 2009).

Egy szubkrónikus toxicitási vizsgálatot végeztek az N-acetilglükózaminnal (GlcNAc), a kitin monomer formájával, 10 hím és 10 nőtény F344 patkányon, amelyek 0, 0,625, 1,25, 1,8, 0,25 és 1,25, 2,5 vagy 5% koncentrációjú GlcNAc-kal kiegészített, pelletált étrendet kaptak 13 hétig (Lee et al., 2004). Minden állat túlélte a kísérlet végéig. Enyhe, nem szignifikáns testtömegnövekedést figyeltek meg 0,625, 1,25 vagy 2,5% GlcNAc adása esetén a 4. héttől egészen a kísérlet végéig, amikor az állatok feláldozása után a testtömeg szignifikánsan magasabb volt azoknál a hímeknél, akik 0,625, 1,25 vagy 2,5% GlcNAc-ot kaptak (ami számos szerv relatív súlycsökkenését eredményezte). A klinikai tünetek, a táplálékfelvétel, a hematológia, a szérumbiokémia és a hisztopatológiai eredmények alapján azonban nem volt egyértelmű indikáció a toxicitásra egyik csoportban sem. A szerzők arra a következtetésre jutottak, hogy az orálisan, az étrendben legfeljebb 5%-os koncentrációban 13 hétig adott GlcNAc nem okoz egyértelmű toxicitást az F344 patkányokban. A NOAEL-t 5%-ban azonosították, ami rendre 2476 és 2834 mg/kg-nak felel meg a hím és nőtény patkányok esetében.

4. Megbeszélés

Az Európai Bizottság által az EFSA-hoz benyújtott kérést követően az ANS Bizottságát felkérték, hogy készítsen szakvéleményt az 5MTHF-glükózamin biztonságosságáról, amennyiben táplálkozási célokra adalékanyagként adják hozzá élelmiszer-kiegészítőkhöz folsav forrásként, valamint az ebből a forrásból származó folsav biológiai hasznosíthatóságáról. A folát biztonságossága az elfogyasztható mennyiségek tekintetében nem tartozik a Bizottság hatáskörébe. Az 5MTHF-glükózamin biztonságosságát a 258/97/EK rendelettel összhangban az új élelmiszerek vonatkozásában az ANS Bizottsága megvizsgálta. Az 5MTHF-glükózamin az emésztőrendszerben teljes mértékben disszociál a két felépítő komponensére, (6S)-5-metil-tetrahydrofolsavra és glükózaminra, amelyek nem új élelmiszerek.

Ebben a szakvéleményben a „folát(ok)” kifejezés a tetrahydrofolsav és az összes, természetesen előforduló N5 és/vagy N10 szubsztituált (metil-, metilén-, metenil-, formil- és formimino) tetrahydrofolsav-vegyület összes sztereoizomerjét jelenti, valamint azokat az anyagokat, amelyek ezeké az anyagokká metabolizálódnak. A folátok megtalálhatóak a normál étrendben, és nagy mennyiségben vannak jelen a májban, a lencsében és a zöld leveles zöldségekben, például a spenótban is (EGVM, 2003). A folátok három alkotórészből állnak – egy szubsztituált pteridinből, ρ -aminobenzoátból és glutamátból. Az emlősök nem képesek pteridin-gyűrűket szintetizálni. A folátok az ^{13}C -metilcsoportok biokémiai hordozójaként funkcionálnak számos oxidációs állapotban. A foláthiány a nukleinsav-szintézis (és egyes aminosavak szintézisének) gátlását eredményezi, és a táplálékhiány különösen a magzati fejlődés során párosul káros hatásokkal (Eichholzer et al., 2006). Ebben a szakvéleményben csak a táplálkozási célokra az étrend-kiegészítőkhöz folsavforrásként hozzáadott 5MTHF-glükózamin biztonságosságát, és az ebből a forrásból felszabaduló folsav biológiai hasznosíthatóságát értékeltük ki.

Az 5MTHF-glükózamin kémiai szintézissel állítható elő folsavból és glükózamin-hidrokloridból. Az alkotórészek és a szennyező anyagok azonosságának megerősítésére analitikai vizsgálatokat alkalmaznak. Az 5MTHF-glükózamin számos szennyeződése folsav-származékokként azonosítható.

A glükózamin egy jól ismert aminosav-monoszacharid, amelyben egy hidroxilcsoport (-OH) egy aminocsoporttal (-NH₂) van helyettesítve (2-amino-2-dezoxi-D-glükóz). A kagylóból kivont glükózamin-szulfát fogyasztásának már 1997. május 15. előtt is hosszú időkre visszatekintő hagyományai voltak az EU-ban. Az Európai Élelmiszerbiztonsági Hatóság Biológiai Kockázati Testületének (BIOHAZ) véleménye szerint az *Aspergillus niger* nem ajánlott a minősített biztonsági feltételezés (QPS) listájára (EFSA BIOHAZ, 2012). A kérelmező szerint azonban az 5MTHF-glükózamin glükózamin komponense a glükózamin-hidrokloridból származik, amely az NDA Bizottság által is értékelt, ugyanazon *Aspergillus niger* törzsből izolált kitinből eredeztethető (EFSA, 2009). A Bizottság megjegyezte, hogy az NDA Bizottság arra a következtetésre jutott, hogy „az ochratoxin A-t nem termelő törzsek biztonságos termelő törzsek. Az RGHAN (az *Aspergillus niger*-ből származó glükózamin-hidroklorid) előállítására használt törzs nem termel ochratoxin A-t” (EFSA, 2009). A gyártási folyamatot figyelembe véve a Bizottság megjegyezte, hogy az 5MTHF-glükózamin specifikációinak tartalmaznia kell egy jelzést a mikotoxinok hiányára vonatkozóan.

Az 5MTHF-glükózamin a 2002/46/EK irányelvvel összhangban az étrend-kiegészítők előállításához használt alternatív folsavforrásként szolgálhat, és javasolt dózisa legfeljebb 1,8 mg 5MTHF-glükózamin/nap, vitamin, multivitamin, valamint vitamin- és nyomelem-tablettákban, mint folsavforrás, ami a kérelmező álláspontja alapján biológiailag egyenértékű 1 mg 5MTHF/nap és 0,8 mg glükózamin/nap dózissal.

A Bizottság megjegyezte, hogy az 5MTHF-glükózamin engedélyezésére irányuló egyik korábbi kérelmet az FSAI-hoz nyújtottak be. Az FSAI 1.1. osztályú, új élelmiszer-összetevőként sorolta be az 5MTHF-glükózamint. Ebbe az osztályba tartoznak azok az élelmiszerek és élelmiszer-összetevők, amelyek egyetlen olyan kémiai meghatározott anyagból vagy ezek keverékéből állnak, amelyeket nem olyan növényekből, állatokból vagy mikroorganizmusokból nyernek, amelyeket genetikailag módosítottak, és az új élelmiszerek forrása a Közösségben táplálkozási célú felhasználással rendelkezik (Bizottság 97/618/EK ajánlás).

A folsav az EU-ban élelmiszer-kiegészítőként van engedélyezve (2002/46/EK irányelv). A folsav azonban nem fordul elő jelentős mennyiségben az élelmiszerekben. Az 5MTHF a folsav nagy mennyiségben megtalálható természetes formája számos élelmiszerben megtalálható, valamint a folátok azon létfontosságú formája, melyben a folátok előfordulnak és az emberi test is ebben a formában raktározza (Shane, 2000; Scott, 2001).

Az SCF által megállapított, a folsavra vonatkozó populáció referencia-bevitel értéke 200 $\mu\text{g}/\text{nap}$, terhesség alatt 400 $\mu\text{g}/\text{nap}$ (SCF, 2000). Az 1990-es években az európai országokban a felnőttek átlagos folsavbevitel 300 $\mu\text{g}/\text{nap}$ volt felnőtt férfiaknál, és 250 $\mu\text{g}/\text{nap}$ felnőtt nőknél (de Bree et al., 1997). Terhes nőknél és azoknál, akik terhességet terveznek, a >400 $\mu\text{g}/\text{nap}$ folsav-bevitel tekinthető védő hatásúnak a velőcső-záródás ellen (SCF, 2000).

A folsav 1 mg/nap/fő tolerálható legmagasabb beviteli szintjét a nagy folsav-dózissal kezelt, vészes vérszegénységben (anemia perniciosa) szenvedő betegek eredményei alapján határozták meg (SCF, 2000). Az SCF (2000) kijelentette, hogy nincs bizonyíték arra, hogy a természetes, redukált folátok magas bevitelével járna-e bármilyen kockázat, ezért jelenleg nincs határérték a természetes folátok tolerálható legmagasabb beviteli szintjének meghatározására. Ugyanakkor azt is kijelentették, hogy a szintetikus redukált folátok, azaz az 5MTHF, mint a folsav alternatívája, biztonságossága és hatásossága vonatkozásában további tanulmányokra van szükség. Mindenesetre az 5MTHF-Ca a 1170/2009/EK rendelettel módosított 2002/46/EK irányelv II. mellékletébe mint új folátforrás került be.

A természetes élelmiszerekben megtalálható folátok túlnyomórészt poliglutamátok, amelyek változó számú glutamát-maradékot tartalmaznak (Shane, 2000). A folátok, beleértve a folsavat is, elsősorban a proximális vékonybélben szívódnak fel (Shane, 2000), és az abszorpció a glutamát-maradékoktól függ. Mivel csak a monoglutamát forma szívódik fel, a poliglutamát-folátokat a bélhámsejtek kefeszegélyéhez asszociált γ -glutamil-hidroláz enzimnek monoglutamát formává kell dekonjugálnia (Gregory et al., 1992; Shane, 2000). Mielőtt a folsav monoglutamát formái bejutnának a vérkeringésbe, tetrahydrofolátá redukálódnak, majd az éhbél (jejunum) nyálkahártya-sejtjein történő áthaladás során vagy metilálódnak, vagy formilálódnak (Shane, 2000). Tehát a folátok abszorpciójának hatékonysága a glutamát-oldallánc hosszától függ, és a poliglutamát-lánc jelenléte a monoglutamát-folsavhoz viszonyítva csökkenti a biológiai hasznosíthatóságot (Melse-Boonstra et al., 2004). A folátok hidrofíl jellegéből adódóan nem valószínű, hogy diffúzióval át tudnának haladni a sejtmembránokon (Selhub és Rosenberg, 1981; Hou és mtsai, 2005). Az abszorpció elsősorban egy nagyon specifikus redukált folsav hordozón keresztül történik (Hou et al., 2005).

A kérelmező nem nyújtott be adatokat az 5MTHF-glükózaminból felszabaduló folsav biológiai hasznosíthatóságával kapcsolatosan állatkísérletekben. A kérelmező egy keresztezett, összehasonlító biológiai hasznosíthatósági tanulmányról számolt be, amelyben humán önkéntesekben hasonlították össze az 5MTHF-glükózamin-folsavból felszabaduló folsav biológiai hasznosíthatóságát az 5MTHF-Ca-ból származó folsav adataival, egyszeri orális expozíció után, mindkét esetben 400 μ g szabad folátra normálva (valamint mindkét esetben 400 μ g szabad folát együttes alkalmazásával). Nem észleltek szignifikáns különbséget a folát plazmaszintjeiben az 5MTHF-glükózamin és az 5MTHF-Ca-t kapott önkéntesek között. A Bizottság álláspontja szerint az 5MTHF-glükózaminból származó folsav biológiai hasznosíthatósága hasonló az 5MTHF-Ca-ból származó folsav biológiai hasznosíthatóságához emberben.

A táplálékból származó túlzott folátfogyasztással kapcsolatban semmilyen káros hatást nem mutattak ki (Butterworth és Tamura, 1989). Mellékhatások kizárólag a folsav túlzott bevitele esetén jelentkeztek (SCF, 2000).

A kérelmező a genotoxicitási adatok kivételével nem szolgáltatott toxikológiai adatokat az 5MTHF-glükózaminra vonatkozóan. A Bizottság megjegyezte, hogy az 5MTHF-glükózamin az emésztőrendszerben az egyes felépítő ionokra bomlik, ezért az 5MTHF-glükózamin toxicitási vizsgálatához az egyes komponensek, az 5MTHF és a glükózamin tulajdonságai alapján történő megközelítés is elfogadható.

Annak megállapítására, hogy a kérelmező által javasolt előírásoknak megfelelő 5MTHF-glükózamin hordoz-e genotoxikus kockázatokat, különféle vizsgálatokat végeztek: Ames-teszt öt teszter törzs - *S. typhimurium* TA1535, TA1537, TA98 és TA100, és *E. coli* WP2 uvrA felhasználásával; az 5-trifluor-timidin-rezisztens mutánsok indukciójának vizsgálata egér limfóma L5178Y sejtekben; továbbá kínai hörcsög petefészkek (CHO) sejtek kromoszóma-rendellenességeinek vizsgálata. Összességében a Bizottság arra a következtetésre jutott, hogy az 5MTHF-glükózamin forrás nem vet fel aggályokat a genotoxicitással kapcsolatban.

Az 5MTHF-Ca-t korábban az AFC Bizottsága értékelt, amelynek keretében megállapították, hogy az 5MTHF-Ca vizes közegben könnyen és teljes mértékben disszociál kalcium- és 5MTHF-ionokra (EFSA, 2004). Az 5MTHF-Ca esetében 5MTHF-glükózamin szintetikus állítható elő folsavból, és a Bizottság szerint az 5MTHF-glükózamin is teljes mértékben hidrolizálódik, amelynek során az emésztőrendszerben felszabadulnak belőle az 5MTHF-ionok. Az 5MTHF-Ca nem bizonyult genotoxikusnak (EFSA, 2004).

A patkányokon végzett szubkrónikus és fejlődési toxicitási vizsgálatok során a maximum 400 és 1000 mg/ttkg maximális napi dózisban adott 5MTHF-Ca patkányokban nem okozott kimutatható káros hatást. Az AFC Bizottság ezért arra a következtetésre jutott, hogy az 5MTHF-Ca folsavforrásként való használata táplálék-kiegészítőkben a folsav helyettesítésére (a tolerálható maximális 1 mg folsav/felnőtt személy/nap dózisban) biztonsági szempontból nem jelent kockázatot.

A glükózamin-szulfátot az „Új élelmiszer-katalógus” is tartalmazza, „FS-státusszal”. A Bizottság megjegyezte, hogy tekintettel arra, hogy az 5MTHF-glükózaminban glükózamin-hidrokloridot használnák a glükózamin forrásaként, a termékben található glükózamin új anyagnak tekinthető az EU lakossága számára.

2009-ben az NDA Bizottság szakvéleményt adott ki az *Aspergillus niger*-ből előállított glükózamin-hidroklorid élelmiszer-összetevőként való biztonságosságáról, és arra a következtetésre jutott, hogy az *Aspergillus niger*-ből származó glükózamin-hidroklorid élelmiszer-összetevőként a felnőtt fogyasztók számára biztonságos, javasolt beviteli szintje 750 mg glükózamin/személy/nap, de a cukorbetegségben vagy glükóz-intoleranciában szenvedő fogyasztóknak orvosi tanácsot kell kérniük a fogyasztás megkezdése előtt (EFSA, 2009). 2011-ben az NDA Bizottság egy véleményben hívta fel a figyelmet arra, hogy a kumarin antikoagulánsokat szedő betegek további kockázati csoportot alkotnak (EFSA NDA Panel, 2011).

A Bizottság megjegyezte, hogy bár a pontos dózis-hatás kapcsolat nem határozható meg, az NDA véleményében említett esettanulmányok azt mutatják, hogy a glükózamin-bevitel több száz mg/nap és annál magasabb is lehet (EFSA NDA Panel, 2011).

A Bizottság megjegyezte, hogy a javasolt felhasználási módok és felhasználási szintek mellett az 5MTHF-glükózaminból származó glükózamin maximális expozíciója 0,8 mg/nap. A Bizottság hozzátette, hogy a jelen véleményben a javasolt felhasználási módokból és felhasználási szintekből adódóan a glükózaminnak való maximális expozíció értéke elhanyagolható az *Aspergillus niger*-ből származó glükózaminról szóló NDA-véleményben szereplő expozícióhoz képest.

Konklúziók

A Bizottság arra a következtetésre jutott, hogy az 5MTHF-glükózaminból származó folát biológiai hasznosíthatósága emberben történő orális expozíció után hasonló mértékűnek valószínűsíthető, mint az 5MTHF-Ca-ból származó folát adatai.

A vizsgálóbizottság megállapította, hogy az 5MTHF-glükózamin folsavforrás nem vet fel aggályokat a genotoxicitás tekintetében.

A Bizottság arra a következtetésre jutott, hogy az 5MTHF-glükózamin javasolt felhasználási módjai és felhasználási szintjei, ha táplálkozási célokra, táplálékkiegészítőkhöz adják hozzá folsavforrásként, nem jelentenek biztonsági problémát.

A gyártási folyamatot figyelembe véve a Bizottság megállapította, hogy az 5MTHF-glükózamin specifikációinak tartalmaznia kell egy jelzést a mikotoxinok hiányára vonatkozóan.

AZ EFSA SZÁMÁRA BENYÚJTOTT DOKUMENTUMOK

1. A (6S)-5-metiltetrahydrofolsav, glükózamin-só új élelmiszer-összetevőként történő forgalomba hozatalának kérelme a 258/97/EK rendelet szerint. 2011. június. Benyújtotta: GNOSIS S.p.A., Desio, Olaszország.
2. Technikai dokumentáció (2012). A (6S)-5-metiltetrahydrofolsav, glükózamin-sónak a 2002/46/EK irányelvbe történő felvétele iránti kérelem. 2012. július. Benyújtotta: GNOSIS S.p.A., Desio, Olaszország.
3. További adatok az EFSA 2013. április 12-i levelében foglaltaknak megfelelően. Adatszolgáltatás: 2013. április 25.

REFERENCIÁK

- Abad AR and Gregory JF, 1987. Determination of folate bioavailability with a rat bioassay. *Journal of Nutrition*, 117, 866–873.
- Aghazadeh-Habashi A and Sattari S, 2002. Single dose pharmacokinetics and bioavailability in the rat. *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 5, 181–184.
- Bhandari SD and Gregory JF, 1992. Folic acid, 5-methyl-tetrahydrofolate and 5-formyl-tetrahydrofolate exhibit equivalent intestinal absorption, metabolism and in vivo kinetics in rats. *Journal of Nutrition*, 122, 1847–1854.
- Butterworth CE and Tamura T, 1989. Folic acid safety and toxicity: a brief review. *American Journal of Clinical Nutrition*, 50, 353–358.
- de Bree A, van Dusseldorp M, Brouwer IA, van het Hof KH, Steegers-Theunissen RP, 1997. Folate intake in Europe: recommended, actual and desired intake. *European Journal of Clinical Nutrition*, 51, 643–660.
- Eichholzer M, Tönz O and Zimmermann R, 2006. Folic acid: a public-health challenge. *Lancet*, 367, 1352–1361.
- EFSA (European Food Safety Authority), 2004. Opinion of the Scientific Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Materials in Contact with Food related to calcium L-methylfolate. *The EFSA Journal* 2004, 135, 1–20.
- EFSA (European Food Safety Authority), 2009. Opinion on the safety of glucosamine hydrochloride from *Aspergillus niger* as food ingredient. *The EFSA Journal* 2009, 1099, 1–19.
- EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA), 2011. Statement on the safety of glucosamine for patients receiving coumarin anticoagulants. *EFSA Journal* 2011;9(12):2473, 8 pp. doi:10.2903/j.efsa.2011.2473
- EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ), 2012. Scientific Opinion on the maintenance of the list of QPS biological agents intentionally added to food and feed (2012 update). *EFSA Journal* 2012;10(12):3020, 84 pp. doi:10.2903/j.efsa.2012.3020
- EGVM (Expert Group for Vitamins and Minerals), 2003. Safe Upper Levels for Vitamins and Minerals. Online elérhetőség: <http://cot.food.gov.uk/pdfs/vitmin2003.pdf>.
- FSANZ (Food Standards Australia New Zealand), 2008. Final assessment report, Application A566, L-5-methyltetrahydrofolate, calcium as a permitted vitamin form of folate. 2008. június 4.
- Gregory JF, Bhandari SD, Bailey LB, Toth JP, Baumgartner TG and Cerda JJ, 1992. Relative bioavailability of deuterium-labeled monoglutamyl tetrahydrofolates and folic acid in human subjects. *American Journal of Clinical Nutrition*, 55, 1147–1153.
- Hamman H-J, Luetkemeir H, Knuppe C and Millar PM, 2001. Calcium-L-mefolate (L-MTHF): 13-week oral toxicity (gavage) study in Wistar rats. RCC Project No. 758316. Lab: RCC Ltd, Toxicology Division, Itingen, Switzerland) Sponsor: Merck KgaA, Darmstadt, Germany. Nem publikált vizsgálati beszámoló.
- Hou Z, Stapels SE, Haska CL and Matherly LH, 2005. Localisation of substrate binding domain of the human reduced folate carrier to transmembrane domain 11 by radioaffinity labelling and cysteine-substituted accessibility methods. *Journal of Biological Chemistry*, 280, 36206–36213.
- IOM (Institute of Medicine), 2003. Safety review: Draft 3 Prototype Monograph on Glucosamine. National Academy of Sciences (NAS), Washington, DC, USA, 1–84.
- JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee), 2006. Evaluation of certain food additives. Sixty-fifth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on food additives. Online elérhetőség: http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_934_eng.pdf.

- Lee KY, Shibutani M, Takagi H, Arimura T, Takigami S, Uneyama C, Kato N and Hirose M, 2004. Subchronic toxicity study of dietary N-acetylglucosamine in F344 rats. *Food and Chemical Toxicology*, 42, 687–695.
- Melse-Boonstra A, West CE, Katan MB, Kok FJ and Verhoef P, 2004. Bioavailability of heptaglutamyl relative to monoglutamyl folic acid in health adults. *American Journal of Clinical Nutrition*, 79, 424–429.
- SCF (Scientific Committee on Food), 2000. Opinion of the Scientific Committee on Food on the Tolerable Upper Intake Level of folate. SCF/CS/NUT/UPPLEV/18 Final. 28 November 2000. Online elérhetőség: http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out80e_en.pdf.
- Schubert C and Jacobs M, 2003. Art. 100461 (Metafolin) - Prenatal developmental toxicity study after oral administration to rats. Unpublished study report of Merck KgaA, Darmstadt, Germany, for Merck Eprova AG, Schaffhausen, Switzerland.
- Scott JM, 2001. Evidence of Folic Acid and Folate in the Prevention of Neural Tube Defects. In: *Functions of vitamins beyond Recommended Dietary Allowances*, Issue 55. Eds Walther P, Horning DH and Moser. *Bibliotheca Nutritio et Dieta*. Basel, Karger, 192-195.
- Selhub J and Rosenberg IH, 1981. Folate transport in isolated brush border membrane vesicles from rat intestine. *Journal of Biological Chemistry*, 256, 4489–4493.
- Setnikar I, Giacchetti C and Zanolo G, 1986. Pharmacokinetics of glucosamine in the dog and man. *Arzneimittel-Forschung*, 36, 729–735.
- Setnikar I, Palumbo R, Canali S and Zanolo G, 1993. Pharmacokinetics of glucosamine in man. *Arzneimittel-Forschung*, 41, 1109–1113.
- Setnikar I and Rovati LC, 2001. Absorption, distribution, metabolism and excretion of glucosamine sulphate. A review. *Arzneimittel-Forschung*, 51, 699–725.
- Shane B, 2000. Folic acid, vitamin B12, and vitamin B6. In *Biochemical and Physiological Aspects of Human Nutrition*. Ed. Stipanuk MH. WB Saunders Company, Philadelphia, PA, USA, 483–500.
- Venn BJ, Green TJ, Moser R, McKenzie JE, Skeaff CM and Mann J, 2002. Increases in blood folate indices are similar in women of childbearing age supplemented with (6S)-5-methyltetrahydrofolate and folic acid. *Journal of Nutrition*, 132, 3353–3355.

RÖVIDÍTÉSEK

AFC	Scientific Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Materials in Contact with Food (Élelmiszer-adalékanyagok, aromaanyagok, feldolgozási segédanyagok és élelmiszerekkel érintkező anyagok tudományos bizottsága)
ANS	EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food (Az EFSA Élelmiszerekhez Hozzáadott Élelmiszeradalékok és Tápanyagforrások Bizottsága)
BIOHAZ	EFSA Panel on Biological Hazards (EFSA Bizottság a Biológiai veszélyekről)
BMI	testtömeg-index
CAS	Chemical Abstracts Service
EFSA	European Food Safety Authority (Európai Élelmiszerbiztonsági Ügynökség)
EU	Európai Unió
FSAI	Food Safety Authority of Ireland (Írországi Élelmiszerbiztonsági Hatóság)
GlcNAc	<i>N</i> -acetilglükózamin
HPLC	nagy teljesítményű folyadékkromatográfia
JECFA	Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (A FAO / WHO Közös Élelmiszer-adalékanyag Szakértői Bizottsága)
IR	infravörös
MS	tömegspektrometria
5MTHF-Ca	(6S)-5-metiltetrahydrofolsav, kalcium só
5MTHF-glükózamin	(6S)-5- metiltetrahydrofolsav, glükózamin só
NDA	Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (Diétás termékek, táplálkozás és allergiák bizottsága)
NMR	nukleáris mágneses rezonancia
NOAEL	No Observed-Adverse-Effect Level (mellékhatást még nem okozó dózisszint)
OECD	Organisation for Economic Co-operation and Development (Gazdasági Együttműködési és Fejlesztési Szervezet)
QPS	qualified presumption of safety (minősített biztonsági feltételezés)
RCF	vörösvérsejt-foláttartalom
RGHAN	<i>Aspergillus niger</i> -ből származó glükózamin-hidroklorid
SCF	Scientific Committee on Food (Élelmiszerügyi Bizottság)
USP/NF	Egyesült Államok Gyógyszerkönyve/National Formulary
UV	ultraibolya