



ENZIMAS ALIMENTARIAS: EVALUACION Y GESTION DEL RIESGO

Rafael Pérez Berbejal

European Commission, DG Health and Food Safety
Unit E7 "Food Improvement Agents"



Colegio Oficial de Veterinarios de Madrid

Departamento de Formación

5 de Mayo 2015

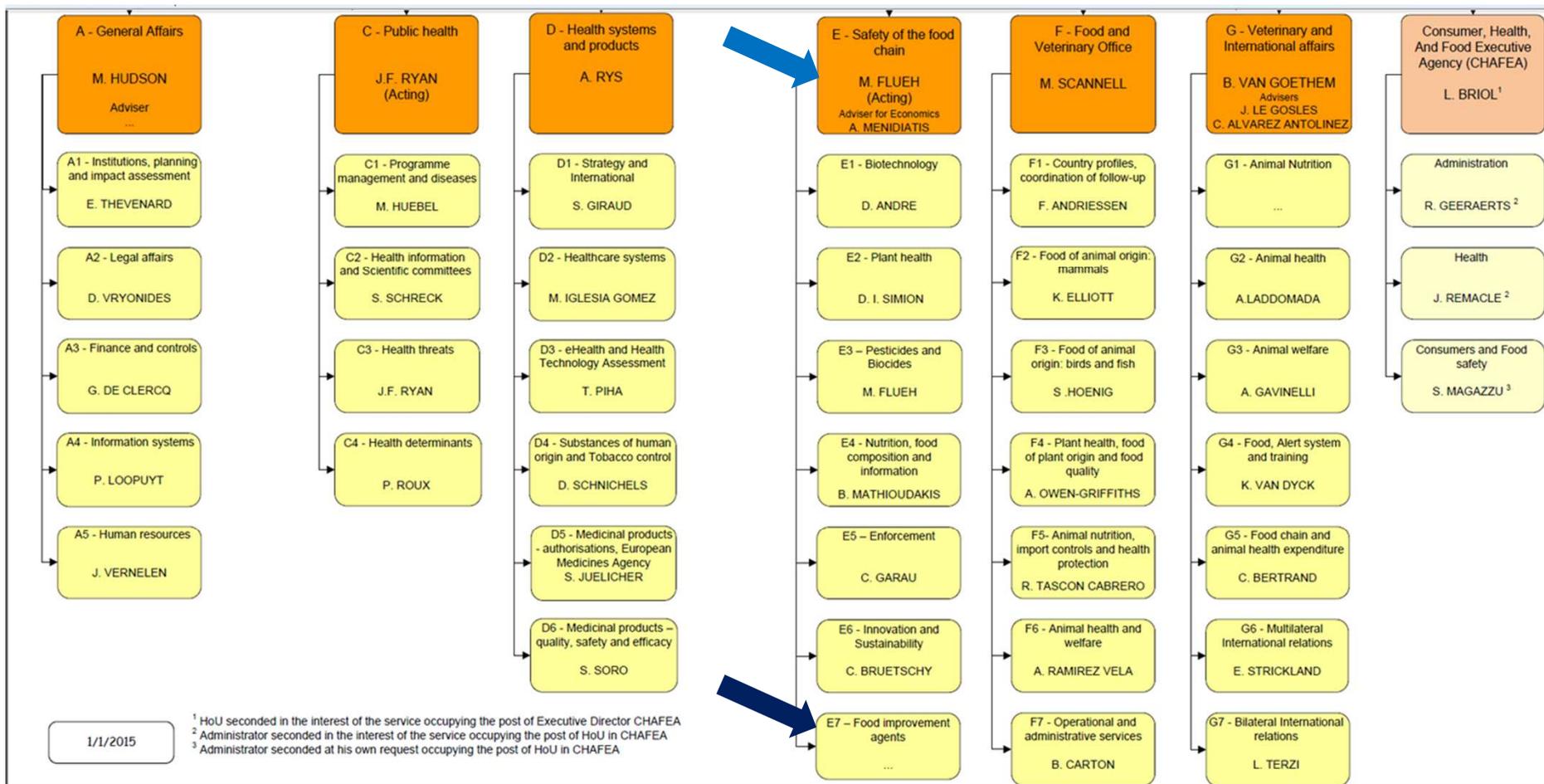
Índice

1. *Organigrama de la DG SANTE*
2. *Datos económicos del sector alimentario*
3. *Diferentes usos de las enzimas*
4. *Definición de enzimas*
5. *Marco legal*
6. *Evaluación del riesgo*
7. *Gestión del riesgo*
8. *Ejemplos de enzimas en la industria alimentaria*
9. *Categorización de enzimas*
10. *Referencias*



European Commission

ORGANIGRAMA DE LA DG SANTE





Datos económicos del sector de alimentos y bebidas en la UE

Volumen de facturación: 1048 billones

Empleos: 4,2 millones

Número de empresas: 286.000. Muy fragmentada

Porcentaje de gasto por familia: 14,6%

Exportación: 86,2 billones

Importación: 63,2 billones



Fuente: FoodDrinkEurope: Data & Trends of the European Food and Drink Industry 2013-2014

Uso de las enzimas a nivel industrial

1. *Fabricación de:*

✓ *Detergentes*

✓ *Cuidado personal (pasta dentífrica, lentes de contacto)*

2. *Industria textil*

3. *Industria del pienso*

4. *Biotecnología*

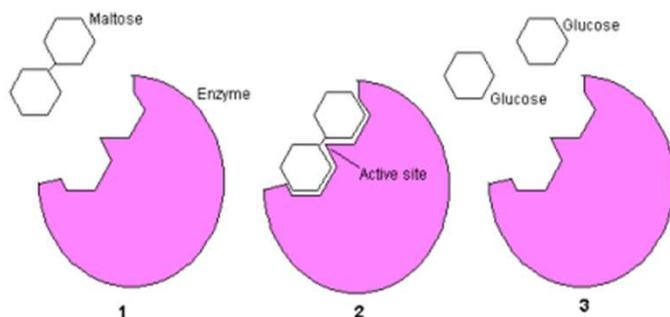
5. *Industria farmacéutica*

6. *Industria alimentaria*



Enzimas: Definición

Definición según EFSA



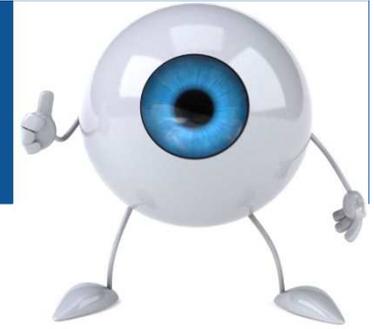


Enzimas: clasificación

Nomenclatura de enzimas basada en los números EC
-Unión Internacional de Bioquímica y Biología Molecular (<http://www.chem.qmul.ac.uk/iubmb>)

- *EC1 Oxidoreductasas (ej. peroxidasas)* ~ 1555
- *EC2 Transferasas (ej. transaminasas)* ~ 1654
- *EC3 Hidrolasas (ej. Lipasas, peptidasas)* ~ 1291
- *EC4 Liasas (ej. descarboxilasas)* ~ 582
- *EC5 Isomerasas (ej. epimerasas)* ~ 253
- *EC6 Ligasas (ej. piruvato carboxilasa)* ~ 183





Ventajas de las enzimas en producción de alimentos

- 1. Alternativas a la tecnología basada en la química tradicional pudiendo sustituir los productos químicos en muchos procesos*
- 2. Mejora ambiental de los procesos de producción. Consumo menor de energía y mayor biodegradabilidad.*
- 3. Son más específicas en su acción que los productos químicos. Menos reacciones colaterales y subproductos de desecho.*

Datos económicos de las enzimas alimentarias en la UE

- 4-5 empresas que representan alrededor del **70%** del mercado mundial, mayoritariamente europeas
- Los miembros de AMFEP (The Association of Manufacturers and Formulators of Enzyme Products) representan alrededor del **90%** del mercado europeo y el **80%** del mercado mundial en enzimas
- Volumen de facturación: **600 millones**





Enzimas en la industria alimentaria: Necesidad de un marco legal

1. Libro blanco de la Comisión sobre seguridad alimentaria (enero 2000): establecer disposiciones específicas referidas a las enzimas.
2. Scoop Task (Dic 2000)-cuestionario a EEMM
 - ✓ Lista de enzimas usadas
 - ✓ Evaluación
 - ✓ Marco legislativo en el EM
 - ✓ Status de las enzimas
3. Obstáculos a la libre circulación/competencia desigual
4. Evaluación de impacto sobre regular las enzimas



European Commission

Marco legal de las enzimas a nivel mundial

Codex Alimentarius-Inventario de coadyuvantes de elaboración (ICE)

Listas de enzimas autorizadas

Francia/Dinamarca

Canadá

Australia/Nueva Zelanda

USA

China

Rusia

Méjico

India, Japón

Article Annexe I C

Modifié par ARRÊTÉ du 30 janvier 2015 - art.

AUXILIAIRES technologiques ^a	CATÉGORIE de l'auxiliaire technologique ^a	DENRÉE alimentaire ^a	CONDITIONS D'EMPLOI/ fonction ^a	DOSE RÉSIDUELLE maximale ^a
5'-AMP-désaminase d'Aspergillus melleus DN-22 ^a	Enzymes ^a	Production d'extraits de levure hydrolysés ^a	Hydrolyse du 5'-adenosine monophosphate ^a	Dose techniquement inévitable ^a
Alpha-acétolactate-décarboxylase de Bacillus subtilis contenant le gène codant l'alpha-acétolactate-décarboxylase de Bacillus brevis ^a	Enzymes ^a	Alcool éthylique d'origine agricole ^a	Hydrolyse de l'alpha-acétolactate précurseur du diacétyle ^a	Dose techniquement inévitable ^a
Alpha-acétolactate-décarboxylase de Bacillus brevis ^a	Enzymes ^a	Bières ^a	Hydrolyse de l'alpha-acétolactate précurseur du diacétyle ^a	Dose techniquement inévitable ^a

Item No.	Column I Additive	Column II Permitted Source	Column III Permitted in or Upon	Column IV Maximum Level of Use
A.1	Amylase	<i>Aspergillus niger</i> var.; <i>Aspergillus oryzae</i> var.; <i>Bacillus subtilis</i> var.; <i>Rhizopus oryzae</i> var.; Barley Malt	(1) Ale; Beer; Light beer; Malt liquor; Porter; Stout (2) Bread; Flour; Whole wheat flour (3) Cider; Wine (4) Chocolate syrups (5) Distillers' Mash (6) Malt-flavoured dry breakfast cereals (7) Single-strength fruit juices (8) Precooked (instant) cereals (9) Starch used in the production of dextrins, maltose, dextrose,	(1) Good Manufacturing Practice (2) Good Manufacturing Practice (3) Good Manufacturing Practice (4) Good Manufacturing Practice (5) Good Manufacturing Practice (6) Good Manufacturing Practice (7) Good Manufacturing Practice (8) Good Manufacturing Practice (9) Good Manufacturing Practice



Marco legal en la UE

1. *Reglamento (CE) Núm. 1332/2008 sobre enzimas alimentarias*
2. *Reglamento (CE) Núm. 1331/2008 Procedimiento de autorización común para los aditivos, las enzimas y los aromas*
3. *Reglamento (UE) Núm. 234/2011 de ejecución del Reglamento 1331/2008*





Reglamento sobre enzimas alimentarias

Establece:

- *Una lista de la Unión Europea de enzimas alimentarias autorizadas*
- *Condiciones de utilización de las enzimas alimentarias en los alimentos*
- *Normas para el etiquetado de las enzimas alimentarias vendidas como tales*





Reglamento sobre enzimas alimentarias

Ámbito de aplicación:

Se aplica a: Enzimas utilizadas en los alimentos, incluidas las que se utilizan como auxiliares tecnológicos.

No se aplica a:

- 1. Enzimas utilizadas para la fabricación de:*
 - ✓ Aditivos*
 - ✓ Coadyuvantes tecnológicos*
- 2. Cultivos microbianos utilizados tradicionalmente en la producción alimentaria*



Coadyuvante tecnológico

- i. No se consume como alimento en sí mismo
- ii. Se utilice intencionalmente en la transformación de materias primas, alimentos o sus ingredientes para cumplir un determinado propósito tecnológico durante el tratamiento o la transformación, y
- iii. Pueda dar lugar a la presencia involuntaria, pero técnicamente inevitable, en el producto final de residuos de la propia sustancia o de sus derivados, a condición de que no presenten ningún riesgo para la salud y no tengan ningún efecto tecnológico en el producto final





European
Commission

Enzyme preparation

Enzyme concentrate
= “food enzyme”

Enzyme
protein

Pure substance

Laboratory

White crystals

Fermentation extract

Enzyme factory

Brown liquid

Formulation

Food manufacturers

Liquid or granulate

Reglamento sobre enzimas alimentarias

Condiciones de utilización

- 1. Que sean seguras para la salud del consumidor.*
- 2. Que exista una necesidad tecnológica*
- 3. Su uso no induzca a error al consumidor*

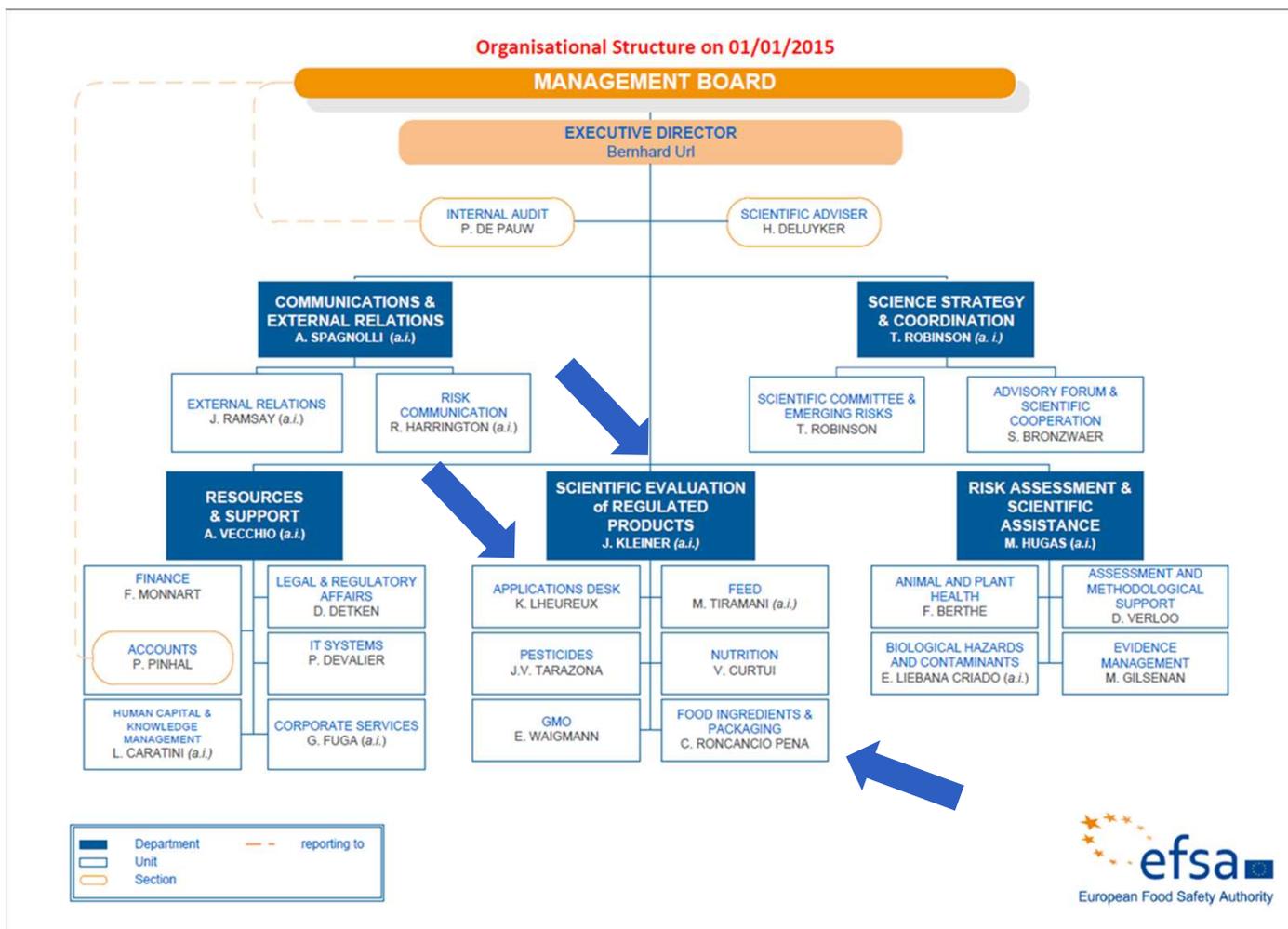
La lista de enzimas se elaborará sobre la base de las solicitudes que se presenten y se someterán al dictamen de la EFSA





European Commission

Evaluación del riesgo-Role de EFSA



EFSA: Evaluación del riesgo

Artículos 5 y 8 del Reg 234/2011. El expediente facilitará una evaluación completa de la sustancia con la información requerida en el Reglamento.

El dossier se divide principalmente en tres partes:

- 1. Datos químicos*
- 2. Información sobre el organismo modificado genéticamente*
- 3. Datos toxicológicos*

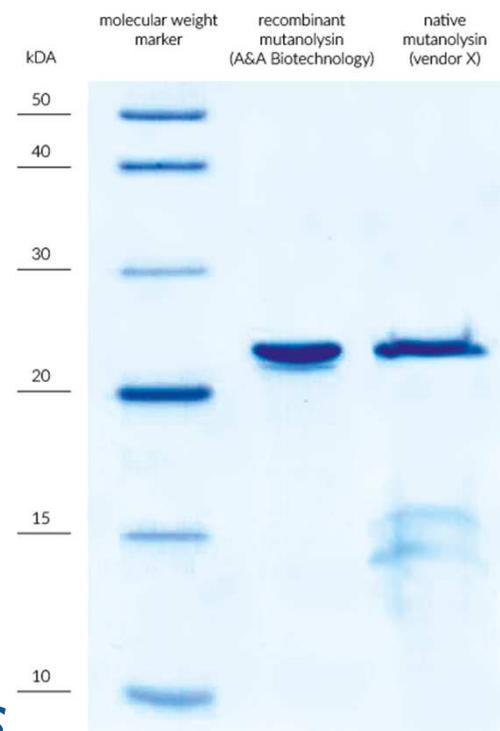


EFSA: Evaluación del riesgo

Datos químicos:

- 1. Datos sobre composición (Núm. de Lotes, Cenizas, Agua, SOT, Actividad Enzimática)*
- 2. Impurezas*
- 3. Representatividad de los lotes*
- 4. Proceso de fabricación*
- 5. Reacción y destino en los alimentos*
- 6. Condiciones de uso*
- 7. Evaluación de la exposición a través de la dieta*

SDS-PAGE analysis of mutanolysin



15% SDS-PAGE, coomassie brilliant blue R-250 stained



European
Commission

Fabricación de enzimas

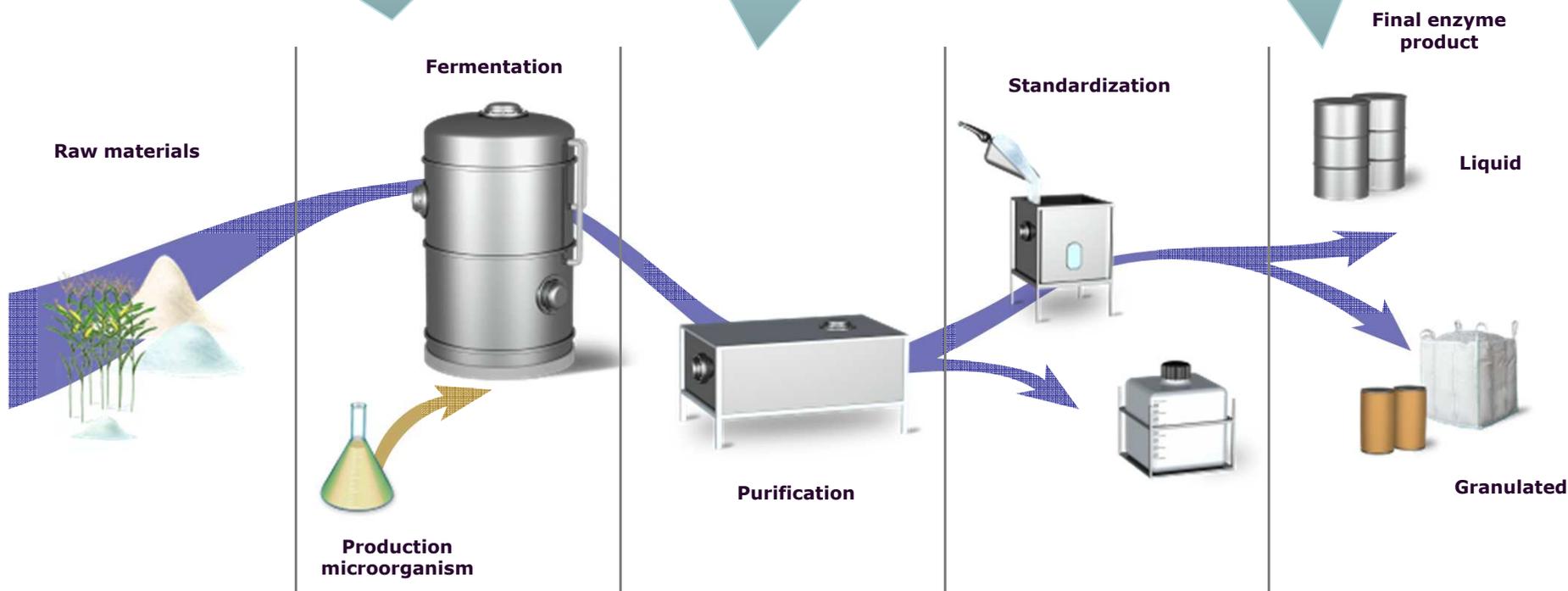
Producing enzyme proteins

Microorganisms produce enzyme proteins and secrete them out from cells.

Separation of enzyme proteins and production microorganism

Microorganism is removed by a series of filtration steps.

Production microorganism is absent in the final enzyme product





European
Commission



Evaluación de la Exposición: cálculo del TMDI

Ejemplo: Dosis recomendada de una enzima en el proceso

Application	Raw material (RM)	Recommended use levels (mg TOS/kg RM)	Maximal recommended use levels (mg TOS/kg RM)
Baking processes	Flour	100-400	400

Budget method

Level of consumption of solid food (kg/kg bw)	Level of consumption of non-milk beverages (L/kg bw)	Proportion of solid food that may contain the enzyme	Proportion of non-milk beverage that may contain the enzyme
0.050	0.1	25%	25%

TMDI: Theoretical Maximum Daily Intake

Evaluación de la Exposición: cálculo del TMDI

Enzyme Application		Raw material (RM)	Maximal recommended use level (mg TOS/kg RM)	Example Final food (FF)	Ratio RM/FF	Maximal level in FF (mg TOS/kg food)
S o l i d f o o d	Baking process	Flour	400	Bakery products	0,7	280

Cálculo del TMDI

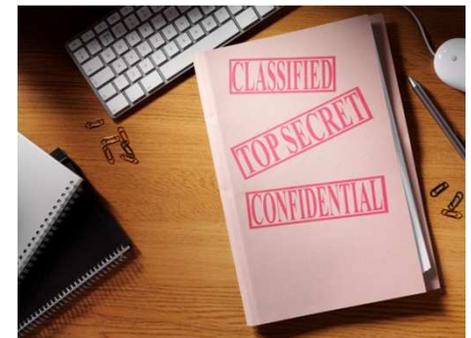
TMDI in solid food (mg TOS/kg body weight/day)	TMDI in beverage (mg TOS/kg body weight/day)	Total TMDI (mg TOS/kg body weight/day)
$280 * 0,05 \text{ kg/kgbw} * 25\%$	----	3,5



EFSA: Evaluación del riesgo

Información sobre el OMG:

1. *Características del microorganismo parental y receptor*
2. *Características del microorganismo donante*
3. *Descripción del proceso de modificación genética*
4. *Seguridad de la modificación genética*
5. *Seguridad para el medio ambiente*





EFSA: Evaluación del riesgo

Datos toxicológicos:

1. *Test de genotoxicidad*
 - ✓ *AMES*
 - ✓ *Chromosomal aberration test/micronucleus test*
2. *Estudios de toxicidad subcrónica*
3. *Estudios de alergenicidad*

*Cálculo del Margen de Exposición **MoE**=NOAEL/TMDI*





European
Commission

EFSA: Evaluación del riesgo-opinión

ABOUT EFSA NEWS & EVENTS TOPICS **PUBLICATIONS** PANELS & UNITS COOPERATION APPLICATIONS HELPDESK CALLS & CONSULTATIONS

Home > Publications > EFSA Journal > Scientific Opinion on lipase from a geneti... Press Centre

EFSA JOURNAL Advanced Search
Search EFSA Journal

Scientific Opinion on lipase from a genetically modified strain of *Aspergillus oryzae* (strain NZYM-AL) Twitter LinkedIn Facebook

EFSA Journal 2014;12(7):3778[17 pp.] doi:10.2903/j.efsa.2014.3778

EFSA Panel on Food Contact Materials, Enzymes, Flavourings and Processing Aids (CEF)
Panel Members +
Acknowledgment +
Contact +

Type: Opinion of the Scientific Committee/Scientific Panel
On request from: European Commission
Question number: EFSA-Q-2013-00198
Adopted: 03 July 2014
Published: 22 July 2014
Last updated: 04 December 2014. This version replaces the previous one/s.
Affiliation: European Food Safety Authority (EFSA), Parma, Italy

Subscribe to the EFSA JOURNAL

See also

- Food enzymes
- Panel on Food Contact Materials, Enzymes, Flavourings and Processing Aids (CEF)
- Food Ingredients and Packaging Unit
- Mandate

Article (0.4 Mb) Send Print Cite

Abstract

The food enzyme considered in this opinion is a lipase (triacylglycerol lipase; EC 3.1.1.3) produced with a genetically modified strain of *Aspergillus oryzae*. The genetic modifications do not give rise to safety concern. The food enzyme contains neither the production organism nor recombinant DNA. The lipase is intended to be used in a number of food manufacturing processes, such as baking, brewing and other cereal-based processes, and immobilised onto an inert support for oils and fats processing. The dietary exposure was assessed according to the Budget method. The food enzyme did not induce gene mutations in bacteria nor micronuclei in human peripheral blood lymphocytes. Therefore, there is no concern with respect to genotoxicity. The systemic toxicity was assessed by means of a 90-day subchronic oral toxicity study in rodents. A No Observed Adverse Effect Level was derived, which, compared with the dietary exposure, results in a sufficiently high Margin of Exposure. The allergenicity was evaluated by searching for similarity of the amino acid sequence to those of known allergens. The Panel considered that the likelihood of food allergic reactions to the enzyme is low and therefore does not give rise to safety concern. Based on the genetic modifications performed, the manufacturing process, the compositional and biochemical data provided and the toxicological studies, this food enzyme does not give rise to safety concern under the intended conditions of use.

© European Food Safety Authority, 2014

Summary

Following a request from the European Commission, the EFSA Panel on Food Contact Material, Enzymes, Flavourings and



Gestión del riesgo

Es llevado a cabo por la Comisión y los EEMM.

Artículo 9 del Reg 234/2011: El expediente incluirá la información necesaria para verificar si existe una necesidad tecnológica razonable y si el uso propuesto no induce a error al consumidor.

- *Identidad de la enzima*
- *Función y necesidad tecnológica*
- *Efecto de la enzima en el producto alimenticio final*
- *Por qué su uso no inducirá error al consumidor*
- *Niveles de uso y máximos propuestos*
- *Evaluación de la exposición a través de la dieta*

Ejemplos de las enzimas en la industria alimentaria



Beta-galactosidasa (lactasa)

Aplicación en leche y productos lácteos. Convierte la lactosa en glucosa y galactosa.

Uso para la leche baja en lactosa o sin lactosa.

Suero bajo en lactosa usado como ingrediente en la industria alimentaria.

En los helados evita la textura "arenosa" provocada por la cristalización de la lactosa.

Evita la cristalización de la leche concentrada.

Ejemplos de las enzimas en la industria alimentaria



Pectinasas

Producción industrial de jugos de frutas y vegetales. La pectina debe ser eliminada debido a su capacidad de retener líquidos y enturbiar el producto.

Por su acción pectinolítica, las pectinasas liberan el jugo retenido en la pectina de las paredes celulares vegetales, aumentando el rendimiento de extracción del jugo y mejorando su calidad. También facilitan la clarificación de vinos y cervezas.

Ejemplos de las enzimas en la industria alimentaria



Cuajo (quimosina, pepsina, gástrica)

Elaboración del queso. La enzima actúa desestabilizando a la caseína, lo que da lugar a la formación de un "gel" o coágulo que engloba al suero y los glóbulos grasos en su interior.

*Durante siglos se ha utilizado en la elaboración del queso el cuajo animal. Actualmente hay otras enzimas coagulantes, tanto de origen vegetal (flores de *Cynara cardunculus*) como de origen microbiano (proteasas fúngicas, etc.)*

Ejemplos de las enzimas en la industria alimentaria



Asparaginasa

Una de las herramientas para reducir la formación de acrilamida.

La acrilamida se forma principalmente en los alimentos por la reacción de la asparagina con azúcares reductores como parte de la reacción de Maillard. La formación de acrilamida se produce principalmente en condiciones de altas temperaturas (generalmente superiores a 120°C) y escasa humedad).

Alimentos contribuidores: patatas fritas, las patatas fritas (chips), el café, las galletas/pasteles, el pan y los bollos/el pan tostado.

Ejemplos de las enzimas en la industria alimentaria



Trombina

Enzima utilizada para combinar diferentes piezas carne o pescado.

Enzima que se forma como parte del proceso de coagulación sanguínea. Ayuda a la degradación del fibrinógeno a monómeros de fibrina

Etiquetado adicional según Reglam 1169/2011 elaborado a partir de piezas de carne y elaborado a partir de piezas de pescado.



Ejemplos de las enzimas en la industria alimentaria

Lisozima

Presente en gran cantidad en la clara de huevo, que es su fuente de obtención para su uso industrial.

Autorizada como conservante E-1105. Hidroliza parte de los componentes de la pared bacteriana de los microorganismos

Se utiliza como conservante en cervezas que no se someten a pasteurización ni a esterilización por filtración.

Quesos: Se usa para prevenir el problema conocido como "hinchazón tardía". (formación de gases durante la fermentación butírica que puede ocurrir en el curso de la maduración de ciertos tipos de quesos)





Ejemplos de las enzimas en la industria alimentaria

Enzimas en la panificación. Varias enzimas se pueden usar en la panificación:

Amilasas: Son capaces de degradar el almidón en azúcares solubles, que son transformados luego por la levadura durante el horneado

Glucoamilasa: Aumenta la formación de glucosa en la masa y por lo tanto las reacciones de Maillard responsables del color dorado de la corteza del pan

Amilasa maltogénica: Retarda el proceso de endurecimiento del pan.

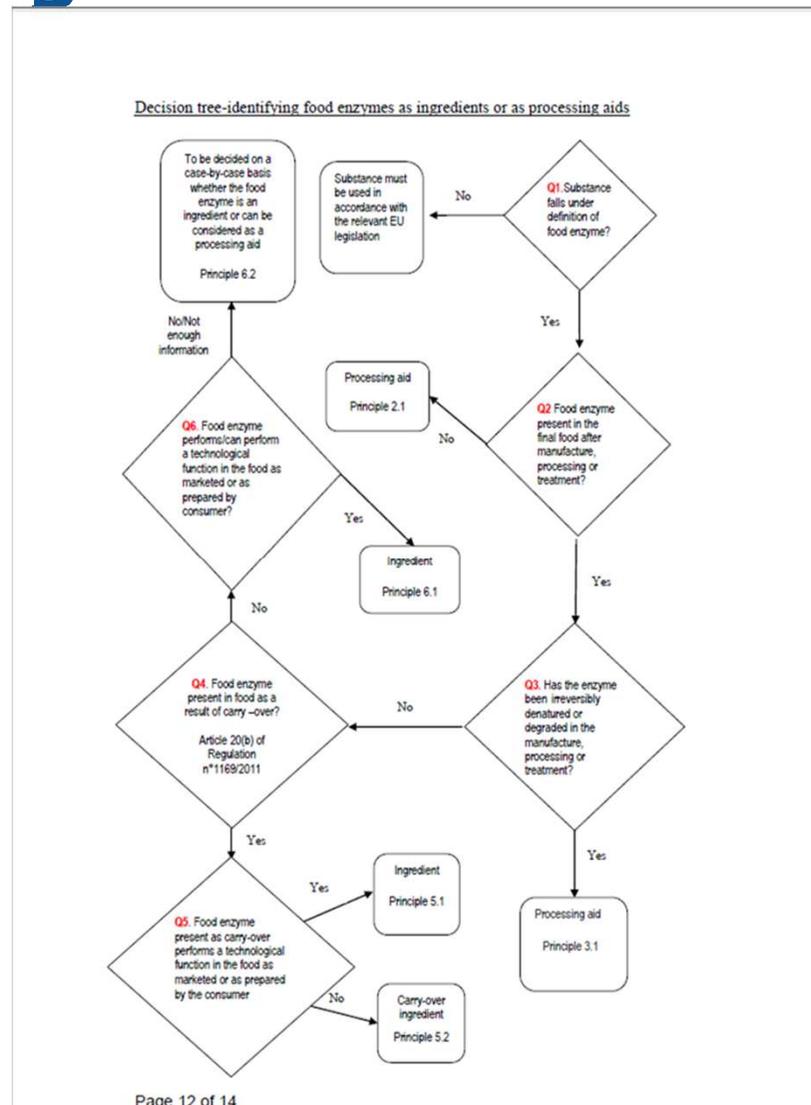
Proteasas: Especiales para el área de galletería. Ablandan o debilitan el gluten para facilidad de manejo de la masa.





European
Commission

Categorización de enzimas





Problemas encontrados

Cloranfenicol (CAF)

Red de alerta alimentaria- presencia de CAF en preparados enzimáticos

Marco legal

Decisión de la Comisión 2002/657CE-límites mínimos de funcionamiento exigidos 0.3 µg/kg de CAF productos de origen animal.

Reglam. 178/2002-principios y los requisitos generales de la legislación alimentaria



Problemas encontrados (1)

Cloranfenicol (CAF)

Actuaciones

Comité de la Cadena Alimentaria Octubre 2013

Resumen texto acordado CAF

Mandato a la EFSA

Reglamento de Ejecución 323/2014-respecta a la intensificación de los controles oficiales de las importaciones de determinados piensos y alimentos de origen no animal

Situación de la enzima papaína.

Comité de la Cadena Alimentaria

Resumen del texto acordado





Referencias

Página web de la DG SANTE-Guía práctica de la Comisión para cumplimentar solicitudes de aditivos, enzimas y aromas.

http://ec.europa.eu/food/food/fAEF/index_en.htm

Guías de la EFSA para las enzimas

<http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/2193.htm>

<http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/1305.htm>

<http://www.efsa.europa.eu/en/supporting/pub/638e.htm>

<http://www.efsa.europa.eu/en/supporting/pub/689e.htm>



*MUCHAS GRACIAS POR SU
ATENCIÓN*

¿PREGUNTAS?

Rafael PEREZ BERBEJAL (email: rafael.perez-berbejal@ec.europa.eu)

