

Zeaxanthine

Zeaxanthin

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

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

aan/to:

de Minister van Volksgezondheid, Welzijn en Sport
the Minister of Health, Welfare and Sport

Nr. 2005-01BNV, Den Haag, 18 mei 2005
No. 2005-01BNV, The Hague, May 18, 2005

Inhoudsopgave

Samenvatting en conclusies	4
1 Inleiding	6
2 Volledigheid en juistheid van het dossier	7
2.1 Administratieve gegevens	7
2.2 Algemene beschrijving van het voedselingrediënt	7
2.3 Classificatie van het voedselingrediënt voor beoordeling	7
2.4 Informatievergaring over het voedselingrediënt	7
2.5 Beknopt overzicht door de aanvrager	8
2.6 Overige beoordelingen	8
2.7 Etiketteringsvoorstel van de aanvrager	8
3 Interpretatie en evaluatie van de voorgelegde gegevens	9
3.1 I Specificatie van het nieuwe voedselingrediënt	9
3.2 II Effecten van het gevolgde productieprocédé op het voedselingrediënt	10
3.3 III Achtergrondinformatie over het als bron voor het voedselingrediënt gebruikte organisme	11
3.4 IX Verwachte opname en gebruiksfrequentie van het voedselingrediënt	11
3.5 X Informatie op basis van eerdere blootstelling van de mens aan het voedselingrediënt of zijn bron	12
3.6 XI Informatie over de voedingswaarde van het voedselingrediënt	15
3.7 XII Microbiologische informatie over het voedselingrediënt	16
3.8 XIII Toxicologische informatie over het voedselingrediënt	16
Bijlagen	
Literatuur	34
De commissie	36
Samenvatting dossier	38

Contents (English translation)

Executive summary and conclusions	19
1 Introduction	21
2 Completeness and accuracy of the dossier	22
2.1 Administrative data	22
2.2 General description of the food ingredient	22
2.3 Classification of the food ingredient for assessment	22
2.4 Information on the food ingredient	23
2.5 Brief summary provided by the applicant	23
2.6 Other assessments	23
2.7 Labelling proposal by the applicant	23
3 Interpretation and evaluation of the data submitted	24
3.1 I Specification of the novel food ingredient	24
3.2 II Effects of the production process applied to the food ingredient	25
3.3 III History of the organism used as the source of the food ingredient	26
3.4 IX Anticipated intake and extent of use of the food ingredient	26
3.5 X Information from previous human exposure to the food ingredient or its source	27
3.6 XI Nutritional information on the food ingredient	30
3.7 XII Microbiological information on the food ingredient	31
3.8 XIII Toxicological information on the food ingredient	31
Appendices	
Literature	34
The Committee	36
Summary dossier	38

Samenvatting en conclusies

De aanvrager DSM Nutritional Products heeft een veiligheidsdossier samengesteld over synthetisch zeaxanthine. De firma vraagt toestemming om dit zeaxanthine op de Europese markt te brengen als ingrediënt van voedingssupplementen, levensmiddelen bestemd voor bijzondere voeding en gewone levensmiddelen. Deze laatste categorie wordt niet nader gespecificeerd. Het dossier met alle productinformatie is voorgelegd aan de commissie Veiligheidsbeoordeling Nieuwe Voedingsmiddelen. De commissie concludeert dat de kwaliteit van synthetisch zeaxanthine gewaarborgd is door de zorgvuldige chemische synthese en zuivering.

Zeaxanthine is een van nature voorkomend pigment aanwezig in fruit, groente en bloemen. Het behoort tot de groep van carotenoïden en is een normaal bestanddeel van onze dagelijkse voeding. Het dossier vermeldt dat in Europa de gemiddelde zeaxanthine inneming uit natuurlijke bronnen varieert van 0,2 tot 0,9 mg per persoon per dag. Bij grootverbruikers van een zeaxanthinerijke voeding met veel groente en fruit kan het blootstellingsniveau oplopen tot zo'n 1,8 mg zeaxanthine per dag.

De commissie heeft kennis genomen van de wetenschappelijke informatie afkomstig van recente onderzoeken bij proefdieren en mensen over de absorptie en biologische rol van zeaxanthine. In het menselijke lichaam zou het functioneren als antioxidant. Volgens de aanvrager beschermt het de lichtgevoelige cellen van het netvlies tegen de schadelijke effecten van UV stralen van zonlicht. De commissie benadrukt dat alleen de veiligheid is beoordeeld en niet de werkzaamheid van zeaxanthine. Het menselijke lichaam absorbeert zeaxanthine net als andere carotenoïden en vetoplosbare vitaminen. Er is geen verschil in de wijze waarop het menselijke lichaam synthetisch en natuurlijk zeaxanthine verwerkt. De commissie is het eens met de aanvrager dat beide verbindingen voedingskundig gezien gelijkwaardig zijn.

In haar evaluatie gaat de commissie uit van een langdurige dagelijkse inneming van zeaxanthine door voedingsbewuste consumenten. Resultaten van observationele en epidemiologische onderzoeken betreffende zeaxanthine inneming met de voeding geven geen aanleiding tot bezorgdheid voor nadelige gezondheidseffecten. De commissie constateert dat de gegevens over veiligheidsgerelateerde kenmerken na blootstelling aan zeaxanthine in geconcentreerde vorm bij mensen beperkt zijn. Bij proefdieren is synthetisch zeaxanthine onderzocht op genetische, subchronische en reproductie toxiciteit en ongewenste effecten zijn niet waargenomen. Carcinogeniteitsonderzoek met proefdieren ontbreekt.

De commissie stemt in met het voorstel van de aanvrager om, op grond van farmacokinetische kenmerken, de dagelijkse inneming te beperken tot 20 mg per persoon per dag. Deze maximale blootstelling ligt ruim onder het niveau dat kan worden afgeleid uit de resultaten van het gepresenteerde toxicologisch proefdieronderzoek. Ongewenste langetermijneffecten door het gebruik van hoge doseringen zeaxanthine acht de commissie niet waarschijnlijk. Zij baseert zich hierbij op het huidige totaal aan beschikbare gegevens over dit type verbindingen. De commissie verwacht daarom geen nadelige

gezondheidseffecten bij mensen die dagelijks ten hoogste 20 mg synthetisch zeaxanthine consumeren. De toepassing die de aanvrager voor zeaxanthine voorstelt biedt echter onvoldoende garanties om te voorkomen dat deze 20 mg wordt overschreden. De commissie concludeert dat aanvullende beheersmaatregelen noodzakelijk zijn en eist dat het productassortiment beperkt en goed gedefinieerd wordt. Omdat de aanvrager geen inschatting heeft gemaakt van de dagelijkse zeaxanthine inneming op basis van een gespecificeerd productassortiment, beschikt de commissie over onvoldoende gegevens om de veiligheidsbeoordeling te kunnen afronden.

1 Inleiding

Op 1 juni 2004 vroeg de minister van VWS het oordeel van de commissie Veiligheidsbeoordeling nieuwe voedingsmiddelen van de Gezondheidsraad, hierna te noemen 'de commissie', over de veiligheid voor de consument van zeaxanthine. Dit zeaxanthine wordt chemisch gesynthetiseerd en is in Europa nog niet op de markt. De firma DSM heeft daarom toestemming voor marktintroductie gevraagd, volgens Verordening 258/97 van het Europese Parlement en de Raad inzake nieuwe voedingsmiddelen (EC97). De minister van VWS heeft de adviserende taak van de commissie met ingang van 1 januari 2005 overgedragen aan het Agentschap ten behoeve van het College ter Beoordeling van Geneesmiddelen. Hierdoor behoort de autorisatieaanvraag van zeaxanthine tot één van de overgangsdossiers.

Eén van de redenen om dit voedsel ingrediënt op de markt te brengen is de veronderstelde gezondheidsbevorderende werking gebaseerd op antioxidant eigenschappen. De aanvrager noemt in dit verband de ouderdoms oogziekte waarbij het gezichtsvermogen vermindert doordat het centrale gedeelte van het netvlies degenereert (*age-related macular degeneration*). De commissie merkt met nadruk op dat evaluatie van de veronderstelde gezondheidsbevorderende werking geen onderdeel is van deze veiligheidsbeoordeling.

De beoordelingsprocedure van zeaxanthine is als volgt verlopen. Op 6 juli 2004 besprak de commissie voor het eerst het dossier dat was opgesteld door de aanvrager, die hierin de veiligheid van het nieuwe product heeft geëvalueerd (DSM04). De commissie heeft medio juli 2004 de firma enkele vragen gesteld waarvan de belangrijkste betrekking hadden op de zuiverheid en stabiliteit van de verschillende zeaxanthinepreparaten, en op de voorgestelde toepassing. In haar vergadering van 16 september 2004 besloot de commissie dat de aanvullende informatie, die de aanvrager in augustus verstrekke, voldeed op één onderdeel na. Dit betrof het voorgestelde gebruik van het product (DSM04a). De commissie heeft hierover nog tweemaal met de aanvrager gecorrespondeerd, in september en december 2004. Uit de antwoorden van de firma van november 2004 en februari 2005 (DSM04b, DSM05) blijkt dat deze niet wenst tegemoet te komen aan de vraag om het productassortiment duidelijk te specificeren. De aanvrager stelt voor het gebruik van zeaxanthine op een andere wijze te reguleren[#], hetgeen buiten het mandaat van de commissie valt (zie paragrafen 3.4 en 3.6). De commissie handhaaft daarom haar oordeel, vastgesteld in haar vergadering van 23 november 2004, dat het ingediende dossier onvoldoende informatie bevat om de veiligheid te kunnen beoordelen. Dit advies is een weergave van de bevindingen van de commissie.

[#] De aanvrager is tot de slotsom gekomen dat hij deze principiële kwestie van begin af aan in Europees verband wil bespreken.

2 Volledigheid en juistheid van het dossier

2.1 Administratieve gegevens

De naam en het adres van de aanvrager, en tevens de producent, zijn: DSM Nutritional Products (geregistreerd als Roche Vitamins Ltd), Wurmisweg 576, CH-4303 Kaiseraugst, Zwitserland. Het postbus adres is PO Box 3255, CH-4002 Basel, Zwitserland.

Het bedrijf Bioresco Ltd (Food Scientific and Regulatory Services), Bundestrasse 29, CH-4054 Basel, Zwitserland, heeft het dossier ingediend en de correspondentie met de commissie gevoerd namens DSM.

2.2 Algemene beschrijving van het voedselingrediënt

Zeaxanthine is een geel-oranje plantaardig pigment dat voorkomt in groente en fruit. Het behoort tot de groep van carotenoïden maar bezit geen (pro)vitamine A activiteit. Het zeaxanthine in de voorliggende aanvraag wordt chemisch gesynthetiseerd. De aanvrager levert zogeheten samengestelde ingrediënten met synthetisch zeaxanthine aan levensmiddelenfabrikanten en beoogt een brede toepassing. Dit betreft eindproducten uit de volgende categorieën: voedingssupplementen, levensmiddelen die bestemd zijn voor bijzondere voeding en gewone levensmiddelen.

2.3 Classificatie van het voedselingrediënt voor beoordeling

De commissie is het eens met de aanvrager dat synthetisch zeaxanthine als nieuw ingrediënt moet worden beschouwd omdat er een nieuw productieproces wordt toegepast. Dit betekent dat het valt onder categorie f van artikel 1, lid 2, van de nieuwe voedingsmiddelen verordening (EC97). Volgens de omschrijving van de bijbehorende klasse 6 in deel I van Aanbeveling 97/618 van de Europese Commissie (EC97a), geldt de classificatie "nieuw" als het procédé wijzigingen veroorzaakt in de chemische samenstelling of structuur van het voedselingrediënt die gevolgen kunnen hebben voor de voedingswaarde, de metabolisatie of het gehalte aan ongewenste stoffen. Omdat het trans-zeaxanthine van deze aanvraag bestaat uit één enkele chemisch gedefinieerde stof, die identiek is aan natuurlijk trans-zeaxanthine (zie paragraaf 3.1), richt de aanvrager zich voornamelijk op het laatst genoemde aspect in verband met mogelijke introductie van verontreinigingen of bijproducten. De commissie stemt hiermee in.

Een andere reden die de aanvrager noemt om het als nieuw voedselingrediënt te behandelen, is het feit dat bij synthetisch zeaxanthine de voedselmatrix ontbreekt waardoor het zich onderscheidt van natuurlijk zeaxanthine aanwezig in voedsel.

2.4 Informatievergaring over het voedselingrediënt

De aanvrager heeft de informatie, die essentieel is voor de beoordeling van de geschiktheid voor de consumptie van synthetisch zeaxanthine, gestructureerd volgens de

thema's die zijn voorgeschreven in Aanbeveling 97/618 van de Europese Commissie (EC97a).

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

De aanvrager bespreekt op overzichtelijke wijze elk van deze thema's, en verwijst voor de gebruikte gegevens naar bijlagen of wetenschappelijke artikelen. Naast deze informatie heeft de commissie ook wetenschappelijke biomedische literatuur geraadpleegd.

2.5 Beknopt overzicht door de aanvrager

Het dossier bevat een samenvatting dat aan de EU lidstaten is toegestuurd, conform artikel 6, lid 2 van de Europese Verordening (EG) 258/97 (EC97). Deze samenvatting is als bijlage opgenomen in dit advies (zie pagina's 38-45).

2.6 Overige beoordelingen

In de Verenigde Staten van Amerika wordt ditzelfde synthetisch zeaxanthine toegepast in voedingssupplementen. In juni 2001 heeft de Food and Drug Administration (US FDA) de premarkt kennisgeving van dit nieuwe voedselingrediënt geaccepteerd. Synthetisch zeaxanthine van DSM is in Australië goedgekeurd als ingrediënt van alternatieve geneesmiddelen waaronder ook voedingssupplementen vallen. Ook in Taiwan is het toegelaten als ingrediënt van voedingssupplementen.

De Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) heeft tijdens haar 63^{ste} vergadering in juni 2004 de veiligheid van synthetisch zeaxanthine van DSM als voedseladditief geëvalueerd en een veilige bovengrens vastgesteld voor deze toepassing (FAO04; zie paragraaf 3.8 van dit advies voor meer informatie).

2.7 Etiketteringsvoorstel van de aanvrager

Etikettering dient in overeenstemming te zijn met Richtlijn 2000/13/EG (EC00) en artikel 8 van Verordening (EG) 258/97 (EC97). Het etiketteringsvoorstel wordt in Nederland in het Regulier Overleg Warenwet besproken, en wordt dus niet beoordeeld in dit advies.

3 Interpretatie en evaluatie van de voorgelegde gegevens

3.1 I Specificatie van het nieuwe voedselingrediënt

Zeaxanthine ofwel (3R, 3'R)-dihydroxy- β -caroteen is een natuurlijk voorkomend carotenoïde met twee eindstandige β -ionone ringen. De meest voorkomende vorm heeft de zogeheten transconfiguratie^a. In deze aanvraag gaat het om gesynthetiseerd kristallijn zeaxanthine, dat volgens de specificatie tenminste 96 % 'all-trans' zeaxanthine bevat en niet meer dan 2 % cis-zeaxanthinen^b. Zowel in het dossier als in het voorliggende advies worden zeaxanthine en trans-zeaxanthine als synoniemen gebruikt. Hiermee wordt 'all-trans' (3R, 3'R)-dihydroxy- β -caroteen^a bedoeld, tenzij anders aangegeven. Omdat in dihydroxy- β -caroteen twee chirale koolstofatomen, C-3 en C-3', aanwezig zijn, bestaan er van deze verbinding drie stereoisomeren. Naast zeaxanthine zijn dit de mesomere vorm (3S, 3'R ofwel 3R, 3'S) en de (3S, 3'S)-isomeer die volgens de aanvrager in geringe mate ook in het product aanwezig kunnen zijn, respectievelijk tot maximaal 2 % en 0,1 %.

De productspecificatie vermeldt dat kleine restanten van bijproducten aanwezig kunnen zijn (zie paragraaf 3.2 voor details). De drie meest voorkomende bijproducten zijn ook carotenoïden, waarvan het gezamenlijke gehalte ten hoogste 1,1 % is. Daarnaast kan het product sporen van *triphenylphosphine oxide* bevatten. Het loodgehalte is ten hoogste 2 mg/kg.

De aanvrager beschrijft de belangrijkste fysische en chemische karakteristieken van het kristallijne zeaxanthine. Het ziet er uit als een oranje-rood poeder. De chemische formule is $C_{40}H_{56}O_2$ en het molecuulgewicht 568,9 Dalton. Het CAS-nummer is 144-68-3.

Het dossier bevat duidelijke beschrijvingen van de methoden om de verschillende bestanddelen te analyseren. De aanvrager verstrekt de samenstellingsgegevens van vier representatieve partijen zeaxanthine die in de jaren van 1977 tot 1985 gesynthetiseerd zijn. Deze producten voldoen ruimschoots aan de gespecificeerde zuiverheidscriteria en werden als teststof toegepast in de verschillende veiligheidsonderzoeken. Dat het een consistente productie betreft blijkt ook uit de verstrekte samenstellingsgegevens van drie recent geproduceerde partijen (DSM04a). De zeaxanthine zuiverheid hiervan is zo'n 97-99 % en de aanvrager verklaart dat verbeteringen in het productieproces de kwaliteit ten goede zijn gekomen.

Puur kristallijn zeaxanthine komt niet als zodanig op de markt maar wordt omhuld met gelatine of zetmeel of het wordt gesuspendeerd in olie (zie paragraaf 3.2).

De commissie concludeert dat de zuiverheid en kwaliteit van het zeaxanthine, dat de aanvrager verwerkt in de commerciële preparaten, door de productinformatie in het dossier betrouwbaar worden weergegeven.

^a Van geconjugeerde dubbele koolstofbindingen bestaan er zogeheten cis- en trans-isomeren; 'all-trans' geeft aan dat alle geconjugeerde dubbele koolstofbindingen van het molecuul in de transvorm voorkomen.

^b Het totaal aan zeaxanthinemoleculen met één of meer dubbele koolstofbindingen in de cis-vorm. Het in ons voedsel voorkomend natuurlijk zeaxanthine bestaat voor 15 % uit cis-isomeren.

3.2 II Effecten van het gevolgde productieprocédé op het voedselingrediënt

Het dossier beschrijft in detail de zes stappen van de chemische synthese van zeaxanthine uit kleinere moleculen. Na elke tussenstap wordt het verkregen product opgezuiverd door het te precipiteren, filtreren, eventueel te wassen met organisch oplosmiddel of water, waarna het wordt gedroogd. Het uitgangsmateriaal en alle tussenproducten zijn geïdentificeerd en fysisch-chemisch gekarakteriseerd. Na de laatste reactiestap, precipiteert het zeaxanthine dat wordt geïsoleerd door filtratie. Vervolgens vindt een herkristallisatie plaats en wordt een zuiver kristallijn eindproduct verkregen. Dit bevat minder dan 0,2 % van de organische oplosmiddelen die bij de verschillende synthesesreacties worden gebruikt. Ook blijkt uit analyse van zware metalen (< 20 mg/kg) dat de toegevoegde katalysatoren efficiënt worden verwijderd. Tijdens de reactie worden er ook andere carotenoïdeachtige verbindingen gevormd, waarvan geringe hoeveelheden in het eindproduct kunnen achterblijven. Dit zijn de bijproducten apo-12'-zeaxanthine (<0,1 %), diatoxanthine (<0,2 %) en parasiloxanthine (< 0,8 %). Volgens de aanvrager komen de laatste twee genoemde verbindingen ook van nature voor in vis en schaaldieren. Het gehalte van een ander bijproduct dat structureel niet aan zeaxanthine is verwant, *triphenylphosphine oxide*, blijft onder de 100 mg/kg.

Puur kristallijn zeaxanthine degradeert onder invloed van atmosferische zuurstof en licht. Geconcentreerd zeaxanthine opgeslagen in het donker onder het edelgas argon blijft één maand stabiel bij 40 °C, maar minstens drie jaar indien gekoeld bij een temperatuur tussen -3 °C en 5 °C. Om de stabiliteit te garanderen komt zeaxanthine alleen in speciale formuleringen op de markt die zijn afgestemd op de verdere verwerking door levensmiddelenfabrikanten (zie bijlage Samenvatting dossier, pagina 41). Dit betreft drie soorten zeaxanthineproducten met een zeaxanthinegehalte van 5 % (twee poedervormpreparaten op basis van gelatine of gemodificeerd zetmeel) of 20 % (suspensie in maïsolie). Aan alle producten zijn één of twee toegelaten antioxidanten toegevoegd (1-2 %), zoals α -tocoferol, ascorbyl palmitaat en natrium ascorbaat. Het dossier bevat de gedetailleerde samenstellingen van deze zeaxanthinepreparaten. De aanvrager heeft op verzoek van de commissie de stabiliteitsgegevens aangevuld (DSM04a). Van meerdere batches van de verschillende preparaten zijn de zeaxanthinegehalten geanalyseerd na opslagperioden van minstens zes maanden. De commissie constateert dat zeaxanthine in een matrix van zetmeel stabiel is bij 15 °C en 40 °C (verpakt in aluminium). Evenzo blijft het zeaxanthinegehalte van een suspensie in maïsolie constant (15 °C). De langst geanalyseerde periode betreft zeaxanthine in een matrix van gelatine bij 15 °C gedurende twee jaar, waarbij geen meetbare afbraak is waargenomen. Tevens illustreert de aanvrager in het kort dat dit zeaxanthinepreparaat stabiel blijft tijdens de eerste 4 tot 8 weken na verwerking in levensmiddelen zoals biscuits, yoghurt, sinasappelsap en ijs. In de periode hierna neemt het zeaxanthinegehalte af, zo'n 4-8 % over 5 tot 10 maanden. Voor zeaxanthine in voedingssupplementtabletten geldt ongeveer hetzelfde.

De commissie heeft kennis genomen van het productieproces. De verschillende stappen worden nauwlettend bewaakt om te garanderen dat het eindproduct voldoet aan

de kwaliteitseisen van de specificatie. Voordat er met de verschillende bouwstenen (uitgangsmaterialen en tussenproducten) gesynthetiseerd wordt, wordt gecontroleerd of deze voldoen aan gestelde zuiverheideisen. De kritieke processtappen zijn duidelijk beschreven en de risico's worden volgens de commissie voldoende beheerst. Zoals toegelicht in paragraaf 3.8 is zij het eens met de aanvrager dat de gevormde bijproducten geen aanleiding geven tot bezorgdheid voor de gezondheid van de consument.

De te vermarkten zeaxanthinepreparaten zijn volgens de commissie voldoende stabiel. Zij wijst erop dat het de verantwoordelijkheid is van de aanvrager om de fabrikanten van levensmiddelen te instrueren betreffende de houdbaarheid van zeaxanthine verrijkte producten in verband met de gevoeligheid van zeaxanthine voor zuurstof en licht.

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

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

Zeaxanthine van DSM wordt niet uit een biologische bron verkregen maar chemisch gesynthetiseerd.

3.4 IX Verwachte opname en gebruiksfrequentie van het voedselingrediënt

De aanvrager vermeldt dat de verschillende zeaxanthine preparaten bedoeld zijn om als ingrediënt te worden verwerkt in voedingssupplementen, levensmiddelen bestemd voor bijzondere voeding en ook gewone levensmiddelen. De aanvrager benoemt bij deze laatste categorie niet om welke producten het gaat, ondanks herhaald verzoek van de commissie om het assortiment nader te specificeren. De aanvullende informatie van de aanvrager (DSM04b) bevat richtlijnen voor gebruik van zeaxanthine bedoeld voor fabrikanten van levensmiddelen. Hierin staat dat voedingssupplementen en levensmiddelen voor bijzondere voeding maximaal 20 mg zeaxanthine per dagelijkse dosis mogen bevatten, of 4 mg per portie als een gebruiksinstructie ontbreekt. Voor de gewone verpakte levensmiddelen adviseert de aanvrager 4 mg zeaxanthine per portie als maximum gehalte. De aanvrager houdt vast aan het concept dat zeaxanthine een conditioneel essentiële voedingsstof zou zijn. Het gebruik van zeaxanthine zou daarom net zoals vitamines en mineralen gereguleerd moeten worden door de toegevoegde hoeveelheid te relateren aan een aanbevolen of adequate hoeveelheid (DSM04a, DSM04b, DSM05, EC02). De aanvrager gaat ervan uit dat op deze manier afdoende wordt bewaakt dat de dagelijkse consumptie de voorgestelde maximale hoeveelheid van 20 mg niet overschrijdt.

De commissie is het oneens met de aanvrager. Om een veilige inneming van bioactieve ingrediënten te waarborgen vereist de commissie in principe gegevens over het productassortiment, de concentratie in het product en de doelgroepen die worden beoogd.

Zij beoordeelt niet de door de firma benoemde status van conditioneel essentiële voedingsstof. De firma beoogt voor de preparaten met synthetisch zeaxanthine een zo breed mogelijke toepassing door producenten van eindproducten en richt zich niet op specifieke doelgroepen. In paragraaf 3.8 beargumenteert de commissie op grond van de fysiologische en toxicologische gegevens waarom zij instemt met het voorstel van de aanvrager om de dagelijkse inneming te beperken tot 20 mg per persoon per dag. De commissie benadrukt dat de beperking van de hoeveelheid zeaxanthine per portie tot 4 mg op zich onvoldoende garanties biedt om te voorkomen dat de 20 mg wordt overschreden. Zij concludeert daarom dat een beperkt en goed omschreven productassortiment noodzakelijk blijft als beheersmaatregel, te meer ook omdat de portiegrootte niet gedefinieerd is. Dit laatste wil de aanvrager overlaten aan de levensmiddelenfabrikanten die hun producten met zeaxanthine willen gaan verrijken. Voorts acht de aanvrager het onwaarschijnlijk dat mensen op één dag een zeaxanthinesupplement én zeaxanthine-verrijkte levensmiddelen zullen consumeren, maar een onderbouwing met bijvoorbeeld gegevens uit consumentenonderzoek ontbreekt.

De commissie heeft kennis genomen van de argumenten van de aanvrager in de antwoorden op haar verzoek om aanvullende informatie (DSM04a, DSM04b, DSM05). Omdat de aanvrager principieel weigert een inschatting te maken van de dagelijkse inneming op basis van een gespecificeerd productassortiment, beschikt de commissie over onvoldoende gegevens om de veiligheidsbeoordeling te kunnen afronden.

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

3.5.1 Huidige blootstelling

Het dossier vermeldt dat zeaxanthine een van nature voorkomend pigment is, aanwezig in fruit, groente en bloemen. Zeaxanthine behoort chemisch gezien tot de carotenoïden^c, en wel tot de subgroep van xanthofyllen (geoxideerde carotenoïden). Na luteïne^d is zeaxanthine het meest voorkomende xanthofyl in ons voedsel. Afhankelijk van het type voedsel of plant varieert de verhouding luteïne/zeaxanthine sterk. Enkele belangrijke zeaxanthinebronnen zijn bijvoorbeeld sinaasappelen, mandarijnen, pompoen, maïs, spinazie, kool, broccoli en groene bonen. Ook eidooier is rijk aan zeaxanthine.

De aanvrager geeft een overzicht van de hoeveelheden zeaxanthine die dagelijks via natuurlijke bronnen worden geconsumeerd. Hiervoor zijn gegevensbestanden over voedselconsumpties gebruikt van een aantal Europese landen. Als gevolg van analytische

^c Bij mensen zijn β -caroteen, lycopene en luteïne de belangrijkste carotenoïden in serum en weefsels. Daarnaast zijn ook aanzienlijke hoeveelheden van zeaxanthine en β -cryptoxanthine aanwezig.

^d Luteïne ((3R, 3'R, 6'R)-dihydroxy- β -caroteen) en zeaxanthine hebben dezelfde molecuulformule maar verschillen voor wat betreft de plaats van een dubbele koolstofbinding in één van de eindstandige ringen. Het zijn zogeheten isomere verbindingen met een vergelijkbare chemische structuur maar verschillende eigenschappen. Beide xanthofylpigmenten zijn aanwezig in de retina en worden vaak in één adem genoemd.

beperkingen werd in deze voedselconsumptiemetingen geen onderscheid gemaakt tussen de innemingen van de zeer vergelijkbare chemische verbindingen luteïne en zeaxanthine. Op basis van de gerapporteerde waarden voor luteïne, of luteïne plus zeaxanthine, leidt de aanvrager af dat de gemiddelde zeaxanthine inneming tussen de 0,2 en 0,9 mg per persoon per dag ligt. De hoogste inneming die de aanvrager vermeldt is voor consumenten van zeaxanthinerijke voeding met veel groente en fruit, en bedraagt 1,8 mg zeaxanthine per dag (95 percentiel, Noord-Italiaanse bevolkingsgroep).

Uit verschillende peilingen in de Verenigde Staten in de periode 1988-1997 blijkt dat de zeaxanthine inneming van de gewone bevolking overeenkomt met de lage range van de Europese inneming. Een ongeveer twee keer hogere zeaxanthine inneming werd waargenomen in die groep mensen van wie de consumptie voldoet aan de aanbevolen dagelijkse hoeveelheden groente en fruit. Dit komt overeen met 0,6 en 1,2 mg zeaxanthine per dag voor respectievelijk het gemiddelde en de 90 percentiel.

Buiten de EU zijn er voedingssupplementen op de markt met natuurlijk luteïne dat sporen van zeaxanthine bevat, maar ook met synthetisch zeaxanthine. Betrouwbare gegevens over de inneming hiervan ontbreken echter. De aanvrager vermeldt dat de zeaxanthine inneming via voedingssupplementen in het algemeen beperkt lijkt, aangezien de door de fabrikanten aanbevolen dagelijkse hoeveelheden ten hoogste 2 mg bedraagt. Sinds april 2003 zijn er in de Verenigde Staten van Amerika supplementen beschikbaar met een aanbevolen dagelijkse dosis van 10 mg.

De commissie meent dat de aanvrager duidelijk in kaart heeft gebracht dat zeaxanthine een normaal bestanddeel is van onze dagelijkse voeding en wat het huidige blootstellingsniveau is. Gezien de verschillen in de methodieken van de voedselconsumptiemetingen is dit laatste niet meer dan een globale indicatie. Daarnaast spelen ook verschillen in voedingspatronen een rol, niet alleen tussen individuen maar ook tussen lidstaten. De aanvrager heeft de zeaxanthine inneming afgeleid uit voedselconsumptiegegevens van luteïne, of luteïne plus zeaxanthine. De commissie merkt op dat ervan wordt uitgegaan dat de hoeveelheid luteïne in levensmiddelen gemiddeld vijf keer meer is dan die van zeaxanthine. De aanvrager rechtvaardigt dit op grond van gedetailleerde analyses van individuele innemingen over de periode 1994 tot 1996, waaruit blijkt dat de verhouding 'luteïne : zeaxanthine' in een doorsnee Amerikaanse voeding 5.3 : 1 is. Het is de commissie niet bekend of dit ook opgaat voor de doorsnee Europese voeding.

Het dossier bevat twee onderzoeken die een indicatie geven van de consumptie van zeaxanthine door de Nederlandse bevolking. Het ene onderzoek is een cohortonderzoek bij ouderen waarin de consumptie van specifieke carotenoïden is berekend (GoI98). De gemiddelde inneming van luteïne plus zeaxanthine bedroeg 2,5 mg per persoon per dag (SD 1,1). Gegevens uit het andere onderzoek, bij personen van 25 tot 45 jaar, geven een mediane inneming van 2,9 mg luteïne plus zeaxanthine per persoon per dag (spreiding 1,4 – 3,0 mg) (O'Ne01). Als een zesde deel van deze hoeveelheden uit zeaxanthine bestaat, dan is de zeaxanthine consumptie van Nederlanders vergelijkbaar met die van Amerikanen, maar lager dan die van Zuid Europeanen.

3.5.2 Mensgebonden onderzoek

In het dossier bespreekt de aanvrager de resultaten van verschillende onderzoeken bij mensen, deels bij thema XI 'voedingswaarde' en deels bij thema XIII 'toxicologische informatie'. De commissie constateert dat maar één onderzoek was opgezet om de veiligheid te evalueren. Dit werd gecombineerd met een uitgebreide analyse van farmacokinetische parameters waarvoor de commissie verwijst naar paragraaf 3.6. Het betrof vijf mannelijke en vijf vrouwelijke, gezonde vrijwilligers die dagelijkse 10 mg synthetisch zeaxanthine in capsulevorm consumeerden over een periode van 42 dagen. Op de dag voor het slikken van de eerste zeaxanthine capsule, op dag 42 en na een herstelperiode op dag 76, werd het plasma onderzocht op verschillende kenmerken. Deze omvatten uitgebreide hematologie (aantallen witte en rode bloedlichaampjes en bloedplaatjes, Hb, bezinking) inclusief bloedstollingsparameters, en een groot aantal klinisch-chemische variabelen (o.a. glucose, eiwit, albumine, ureumstikstof, LDH, totaal bilirubine, totaal cholesterol, triglyceriden, natrium, kalium) inclusief de enzymactiviteiten om te beoordelen of de lever normaal functioneert (de transferasen AST, GPT, gamma-GT en alkalisch fosfatase). Ook werd de urine onderzocht op standaard biochemische variabelen. De commissie meent dat de aanvrager de resultaten van dit onderzoek, dat van goede wetenschappelijke kwaliteit is, correct heeft geïnterpreteerd. De commissie is het eens met de aanvrager dat er geen zeaxanthine-gerelateerde gezondheidsklachten of andere nadelige effecten zijn aangetoond.

In andere onderzoeken met doseringen van 10-30 mg zeaxanthine per dag gedurende 2 tot 6 maanden bij gezonde vrijwilligers werd primair het effect van een verhoogde zeaxanthine inneming op de pigmentdichtheid van het netvlies bestudeerd. Eén onderzoek is uitgevoerd met het synthetisch zeaxanthine van DSM, twee anderen met microkristallijn zeaxanthine verkregen uit flavobacteriën. De aanvrager concludeert dat zelfs bij dergelijke hoge zeaxanthine doseringen de oogfunctie niet nadelig wordt beïnvloed. Hoewel veiligheidsgerelateerde standaardkenmerken niet werden geanalyseerd en ongewenste bijwerkingen niet systematisch werden bijgehouden constateert de commissie dat in geen van deze onderzoeken melding wordt gemaakt van nadelige effecten. Blijkbaar treden er geen duidelijke klachten op bij langdurig verhoogde zeaxanthine consumpties.

De commissie heeft kennis genomen van de resultaten van de observationele en epidemiologische onderzoeken die in het dossier zijn opgenomen. De meesten hiervan zijn gewijd aan de relatie tussen de inneming van zeaxanthine met de voeding en het gezichtsvermogen of de pigmentdichtheid van het netvlies. Hieruit komen geen bijzonderheden naar voren die relevant zijn voor de veiligheidsbeoordeling. De commissie vindt de resultaten die de aanvrager bespreekt van epidemiologisch onderzoek geruststellend, aangezien er geen positieve associaties zijn aangetoond van zeaxanthine (plus luteïne) inneming met de voeding en het ontstaan van verschillende vormen van kanker.

Samenvattend stelt de commissie dat de gegevens over veiligheidsgerelateerde kenmerken na blootstelling aan zeaxanthine in geconcentreerde vorm bij mensen beperkt

zijn. Het totaal aan beschikbare resultaten van mensgebonden onderzoeken geeft geen aanleiding tot bezorgdheid voor de volksgezondheid.

3.6 XI Informatie over de voedingswaarde van het voedsel ingrediënt

Zeaxanthine maakt deel uit van het menselijke lichaam en komt voor in allerlei weefsels. De mens kan zeaxanthine niet zelf synthetiseren maar neemt het op uit de voeding. Net als de andere xanthofylpigmenten heeft het geen provitamine A activiteit. Het netvlies van het oog is in het bijzonder rijk aan zeaxanthine naast luteïne. Het centrale gedeelte bevat uitzonderlijk hoge concentraties van deze beide xanthofylpigmenten en is daarom 'gele vlek' genoemd.

Op basis van de informatie in wetenschappelijke publicaties beschrijft de aanvrager wat de biologische rol van zeaxanthine is. Zeaxanthine functioneert als antioxidant en beschermt de fotoreceptorcellen (lichtgevoelige cellen) tegen de schadelijke effecten van UV stralen van zonlicht. Dergelijke foto-oxidatieve stress kan de fotoreceptorcellen dusdanig beschadigen dat deze afsterven waardoor afvalproducten zich ophopen. Het gevolg hiervan is dat het zicht minder scherp wordt. Volgens de aanvrager zou een te lage zeaxanthineconcentratie in de gele vlek één van de belangrijkste oorzaken zijn dat het netvlies ter plaatse degenerereert.

Het dossier beschrijft in het kort hoe het menselijke lichaam zeaxanthine opneemt en verwerkt. Zeaxanthine wordt net als andere carotenoïden en vetoplosbare vitaminen geabsorbeerd. De nutriënt moet worden vrij gemaakt uit de matrix (voedsel of synthetisch preparaat) en met vetten geëmulgeerd. Darmwandcellen absorberen zeaxanthine uit de gevormde vetbolletjes (micellen) en verpakken het in chylomicronen (lipoproteïne deeltjes). Deze worden via de lymfe naar de lever getransporteerd, waarna een groot deel van het zeaxanthine in de lipoproteïne fractie van het bloed terecht komt. De biologische beschikbaarheid van zeaxanthine is niet alleen afhankelijk van de samenstelling van de matrix waar het in zit, maar ook van andere levensmiddelen die min of meer gelijktijdig worden geconsumeerd. Het blijkt dat de beschikbaarheid van zeaxanthine uit voedsel in het algemeen relatief laag is en de individuele variatie hierin groot. De aanvrager refereert hierbij aan verschillende mensgebonden onderzoeken. Zo blijkt dat een zeaxanthinerijk dieet, met tweemaal zoveel zeaxanthine als in een traditioneel dieet, leidde tot een tijdelijke toename in circulerend zeaxanthine maar na 8 - 15 wk waren baseline niveaus niet meer verhoogd. In het dossier zijn de resultaten opgenomen van twee farmacokinetische onderzoeken met 10 gezonde vrijwilligers die dagelijks 1 of 10 mg synthetisch zeaxanthine in capsulevorm kregen toegediend gedurende 42 dagen. Zeaxanthine verdwijnt met een halfwaardetijd van 5 à 7 dagen uit het bloed. De steady-state plasmaconcentraties, die na ongeveer 17 dagen werden bereikt, bleken ten opzichte van het uitgangsniveau respectievelijk zo'n 4 of 19 keer te zijn toegenomen. Dit zou kunnen betekenen dat een verhoging van de ingenomen hoeveelheid zeaxanthine boven de 1 mg niet leidt tot een evenredige stijging van de zeaxanthineconcentratie in het bloed.

Het is bekend dat carotenoïden, en andere vetoplosbare voedingstoffen, elkaars absorptie kunnen beïnvloeden. Recente onderzoeken met mensen waarvan de resultaten in het dossier zijn opgenomen, tonen aan dat een inneming van 10 mg synthetisch zeaxanthine per dag geen nadelige effecten heeft op de absorptie van andere carotenoïden, α -tocoferol (vitamine E) of retinol (vitamine A). Dit is in overeenstemming met ander onderzoek waaruit blijkt dat consumptie van bepaalde carotenoïden aanwezig in plantaardig voedsel of voedingssupplement, geen nadelige effecten heeft op de plasmaspiegels van andere carotenoïden, in ieder geval voor wat betreft de middellange termijn.

De commissie heeft kennis genomen van de informatie in het dossier over de vertering, absorptie en biologische rol van zeaxanthine afkomstig van recente wetenschappelijke onderzoeken bij proefdieren en mensen. Op basis van resultaten van ongepubliceerd onderzoek met zeaxanthine en het verwante luteïne heeft de aanvrager afgeleid dat bij een consumptie van meer dan 20 mg per persoon per dag de toename in de geabsorbeerde hoeveelheid zeaxanthine niet meer biologisch relevant is. De commissie merkt op dat deze recente gegevens beperkt onderbouwd zijn. De commissie heeft niet getoetst of de bewering van de aanvrager dat zeaxanthine een conditioneel essentiële nutriënt is, gerechtvaardigd is. Het zou onmisbaar zijn voor een goed functionerend visueel orgaan (netvlies) zonder dat het een rol speelt in vitale lichaamsfuncties. Het valt echter buiten het mandaat van de commissie om te beoordelen of zeaxanthine de status heeft van een microvoedingsstof. Tot op heden wordt zeaxanthine niet tot de onmisbare voedingstoffen gerekend zoals vitaminen, mineralen en sporenelementen.

De commissie is het eens met de aanvrager dat het menselijke lichaam synthetisch en natuurlijk zeaxanthine op dezelfde wijze verwerkt en dat natuurlijk zeaxanthine en synthetisch zeaxanthine voedingskundig gezien gelijkwaardig zijn. Zij verwacht dat dagelijkse inneming van ten hoogste 20 mg synthetisch zeaxanthine voedingskundig gezien geen nadelige effecten zal hebben.

3.7 XII Microbiologische informatie over het voedselingrediënt

De aanvrager stelt dat groei van micro-organismen onwaarschijnlijk is in de zeaxanthinepreparaten gezien het geringe vochtgehalte van deze producten. Op verzoek van de commissie heeft de aanvrager de zuiverheidscriteria gespecificeerd waaraan de geproduceerde partijen moeten voldoen voor wat betreft mogelijk aanwezige micro-organismen (DSM04a). Analyses ter controle vinden regelmatig plaats. De commissie concludeert dat de microbiologische kwaliteit voldoet aan de normen voor voedselveiligheid.

3.8 XIII Toxicologische informatie over het voedselingrediënt

Zeaxanthine is onderzocht op genetische, subchronische en reproductie toxiciteit. De rapporten van deze standaardonderzoeken zijn als bijlagen in het dossier opgenomen en

de aanvrager heeft deze in de dossiertekst geëvalueerd (zie bijlage Samenvatting dossier, pagina's 42-44). Alle onderzoeken zijn uitgevoerd met synthetisch zeaxanthine van de aanvrager, waarvan de formuleringen enigszins verschilden van de zeaxanthinepreparaten voor menselijke consumptie. De teststof, die in de onderzoeken met muis, rat en hond door het voeder werd gemengd, of bij apen en konijnen direct in de maag werd toegediend, was speciaal hiervoor samengesteld. De commissie meent dat de geteste zeaxanthinepreparaten representatief zijn voor commercieel geproduceerd zeaxanthine. Zij concludeert dat de toxiciteitstesten zorgvuldig zijn uitgevoerd en dat de resultaten correct geïnterpreteerd zijn. De commissie noemt hieronder de belangrijkste resultaten.

Synthetisch zeaxanthine is niet mutageen en veroorzaakt ook geen chromosoom schade. Dit blijkt uit vier verschillende *in vitro* genotoxiciteitstesten en één *in vivo* micronucleustest in beenmerg van muizen.

In de 13 weken toxicologische onderzoeken met muis, rat en hond werden geen behandelingsgerelateerde effecten waargenomen. Voor elk van deze testen is de NOEL (*No Observed Effect Level*) vastgesteld als de hoogst geteste dosis, te weten voor muis en rat 1000 mg per kg lichaamsgewicht per dag en voor hond 420 mg/kg/dag. In onderzoek naar de teratogeniteit en embryotoxiciteit met ratten en konijnen veroorzaakte de hoogst geteste doseringen van synthetisch zeaxanthine geen nadelige effecten. De NOEL bij ratten was gelijk aan die in het 13 weken onderzoek en bij konijnen was de NOEL 400 mg/kg/dag. Daarnaast bleek uit een 52 weken onderzoek met apen dat langdurige zeaxanthine blootstelling niet leidt tot nadelige effecten. Uitgebreid onderzoek van de ogen van deze apen (inclusief histopathologie) toonde aan dat er geen toxicologisch significante effecten optraden. Ook in dit onderzoek is de NOEL gedefinieerd als de hoogst geteste dosis, te weten 20 mg per kg lichaamsgewicht per dag. De commissie merkt op dat er geen carcinogeniciteitsonderzoek bij proefdieren is uitgevoerd.

De geringe hoeveelheden cis-isomeren van zeaxanthine en de stereoisomeren van trans-zeaxanthine (zie paragraaf 3.1) zijn toxicologisch niet van belang; deze verbindingen komen ook van nature voor, respectievelijk in voedsel en in het netvlies. Voor zover bekend hebben de cis-isomeren van zeaxanthine geen specifieke biologische functie en de stereoisomeren zijn normale stofwisselingsproducten van zeaxanthine. Voor wat betreft de belangrijkste bijproducten, die mogelijk in het eindproduct kunnen achterblijven (voor details zie paragraaf 3.2), heeft de aanvrager het voldoende aannemelijk gemaakt dat hiervan geen nadelige gezondheidseffecten te verwachten zijn. De commissie is het eens met de aanvrager dat de resultaten uit proefdieronderzoek met opgeslagen zeaxanthine van de eerste productieseries ondersteunen dat eventueel gevormde oxidatieproducten geen toxische effecten teweegbrengen.

De resultaten van mensgebonden onderzoeken die relevant zijn voor de beoordeling zijn in paragraaf 3.5.2 geëvalueerd. Hieruit komen geen bijzonderheden naar voren. Hoewel de commissie geen aanwijzingen heeft dat jarenlange dagelijkse inneming van synthetisch zeaxanthine tot ongewenste effecten zou leiden, merkt zij op dat er geen onderzoeksgegevens zijn die dit bevestigen of ondersteunen (Her05).

De Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) heeft de veiligheid van synthetisch zeaxanthine als voedseladditief beoordeeld in juni 2004 (FAO04). Volgens de JECFA geven de toxicologische onderzoeken geen aanwijzingen voor nadelige effecten. Voor luteïne en zeaxanthine is een groeps-ADI^e vastgesteld van 0 – 2 mg per kg lichaamsgewicht per dag (FAO04). De aanvrager heeft op verzoek van de commissie het dossier beschikbaar gesteld dat in 2003 bij de JECFA was ingediend (DSM03). De commissie stelt vast dat voor de beoordeling van synthetische zeaxanthine als additief of als nieuw voedselingrediënt het verstrekte pakket toxicologische onderzoeken nagenoeg gelijk is. De commissie benadrukt dat zij niet beschikt over resultaten van de meer uitgebreide toxicologische onderzoeken met luteïne die de JECFA ook heeft geëvalueerd. Deze informatie was voor het afleiden van de ADI doorslaggevend (persoonlijke correspondentie, JECFA secretariaat).

Volgens de aanvrager is het fysiologisch gezien niet zinvol om meer zeaxanthine in te nemen dan 0,33 mg per kg lichaamsgewicht per dag dat overeenkomt met 20 mg voor een persoon van 60 kg (zie paragraaf 3.6 voor een toelichting). De aanvrager stelt daarom deze hoeveelheid voor als bovengrens voor de dagelijkse zeaxanthineconsumptie (DSM04b, DSM05). De commissie is het eens met de aanvrager dat deze maximale blootstelling ruim onder het niveau ligt dat kan worden afgeleid - onder toepassing van standaard veiligheidsfactoren - uit de resultaten van het gepresenteerde toxicologisch onderzoek met de verschillende proefdiersoorten. In haar evaluatie gaat de commissie uit van een langdurige dagelijkse inneming van zeaxanthine door voedingsbewuste consumenten (Her05). Omdat carcinogeniteitsonderzoek met zeaxanthine bij proefdieren ontbreekt, meent de commissie dat er formeel geen veilige bovengrens kan worden afgeleid. De commissie acht het echter niet waarschijnlijk dat het gebruik van hoge doseringen zeaxanthine zal leiden tot ongewenste langetermijneffecten. Met name voor het mogelijke carcinogeniteitsrisico baseert de commissie zich hierbij op de evaluatie van de JECFA die stelt dat luteïne niet tumorbevorderend werkt. De commissie verwacht daarom dat ook vergelijkbare verbindingen zoals zeaxanthine geen kankerverwekkende eigenschappen zullen hebben. Gebaseerd op het huidige totaal aan beschikbare gegevens verwacht de commissie geen nadelige gezondheidseffecten bij mensen die dagelijks ten hoogste 20 mg synthetisch zeaxanthine consumeren.

^e De ADI (*acceptable daily intake* of wel 'maximaal toegestane dagelijkse 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*'.

Executive summary and conclusions

The applicant DSM Nutritional Products has compiled a safety dossier on synthetic zeaxanthin. The company has applied for permission to market such zeaxanthin in Europe as an ingredient for use in food supplements, foods intended for a particular nutritional purpose and ordinary foods. For the later application, food categories have not been specified. The product information dossier was submitted to the Committee on Safety Assessment of Novel Foods. The latter Committee has concluded that the quality of synthetic zeaxanthin is assured by the exacting chemical synthesis and purification procedures used.

Zeaxanthin is a naturally occurring pigment present in fruit, vegetables and flowers. It belongs to the carotenoid group of substances and is a normal component of our daily diet. According to the dossier, in Europe, the average consumption of zeaxanthin from natural sources varies from 0.2 to 0.9 mg per person per day. A 'high-consumer' of a zeaxanthin-rich diet that includes a lot of fruit and vegetables may be exposed to as much as 1.8 mg zeaxanthin per day.

The Committee has examined the scientific data on the absorption and biological role of zeaxanthin obtained from recent studies with laboratory animals and human subjects. In the human body, zeaxanthin is believed to function as an antioxidant. According to the applicant, it protects the light-sensitive cells of the retina against the harmful effects of the UV component of sunlight. The Committee emphasises that it has assessed only the safety of zeaxanthin, not its efficacy. The human body absorbs zeaxanthin in the same way as other carotenoids and fat-soluble vitamins. There is no difference between synthetic and natural zeaxanthin in terms of the way the substances are processed by the human body. The Committee agrees with the applicant's assertion that the two substances are equivalent in nutritional terms.

In its consideration, the Committee anticipates consumption on a daily basis over a prolonged period by nutritionally conscious consumers. The results of observational and epidemiological studies into dietary zeaxanthin intake suggest that there is no reason to fear that the substance might have an adverse effect on human health. The Committee notes that there is a paucity of data on the behaviour of safety-related indicators following the exposure of humans to concentrated zeaxanthin. In animal studies, synthetic zeaxanthin has been investigated to determine whether it possesses genetic, subchronic and reproduction toxic properties, and no undesirable effects have been observed. Carcinogenicity tests on laboratory animals have not been carried out. The Committee endorses the applicant's proposal that, on the grounds of the substance's pharmacokinetic characteristics, zeaxanthin consumption should be limited to 20 mg per person per day. This upper level of exposure is well below that which is suggested to be acceptable by the results of subchronic toxicity tests with laboratory animals. Furthermore, the Committee considers it unlikely that consumers of high doses zeaxanthin will experience adverse long-term effects based on all the data currently available for this type of compounds. It does therefore not anticipate that people who consume up to 20 mg of synthetic zeaxanthin per day will suffer any adverse consequences. However, there is no

proper guarantee that, if used for the purposes proposed by the applicant, zeaxanthin will not be consumed in quantities exceeding 20 mg per day. The Committee accordingly concludes that additional control measures are needed and requires that the range of products in which zeaxanthin may be used be restricted and precisely defined. Because the applicant has not estimated how much zeaxanthin a member of the public might consume daily if use of this ingredient were confined to a defined product range, the Committee does not have sufficient data to complete its safety assessment.

1 Introduction

On 1 June 2004, the Minister of Health, Welfare and Sport requested the advice of the Committee on Safety Assessment of Novel Foods of the Health Council, referred to below as 'the Committee', concerning the safety of zeaxanthin for the consumer. Chemically synthesised zeaxanthin is not presently available on the European market. A company called DSM has accordingly asked for permission to introduce such zeaxanthin to the market, as provided for in Regulation 258/97 of the European Parliament and of the Council concerning novel foods and novel food ingredients (EC97). With effect from 1 January 2005, the Minister of Health, Welfare and Sport transferred the advisory activities of the Committee to the Agency of the Medicines Evaluation Board. Assessment of the application for the authorisation of zeaxanthin was one of the ongoing matters transferred in this context.

One of the reasons for introducing zeaxanthin to the European market is that this food ingredient is supposed to be beneficial to health on account of its antioxidant properties. In this context, the applicant refers to age-related macular degeneration: a condition affecting older people, which involves visual impairment due to degeneration of the central part of the retina. The Committee wishes to emphasise that an evaluation of the health claim does not fall within the scope of this safety assessment.

Details of the procedure for the assessment of zeaxanthin are given below. On 6 July 2004, the Committee first discussed the dossier prepared by the applicant, containing the latter's evaluation of the safety of the new product (DSM04). Later the same month, the Committee put a number of questions to the applicant, the most important of which related to the purity and stability of the various zeaxanthin preparations, and to the substance's intended uses. At its meeting on 16 September 2004, the Committee decided that the additional information provided by the applicant in August was sufficient in all respects except one, namely the intended usage of the product (DSM04a). The Committee subsequently wrote to the applicant on two further occasions, in September and December 2004. The applicant responded to these letters, in November 2004 and February 2005 (DSM04b, DSM05). From these replies, it was clear that the applicant did not wish to specify more precisely the range of products in which zeaxanthin was likely to be used. The applicant suggested regulating usage of zeaxanthin by other means[#], which fall outside the Committee's remit (see subsections 3.4 and 3.6). The Committee accordingly stands by the conclusion reached at its meeting on 23 November 2004, namely that the dossier submitted does not provide sufficient information to allow for complete assessment of the safety of zeaxanthin. This report contains the Committee's findings.

[#] The applicant concluded that this matter of principle should be discussed in a European context from the outset (ADM05).

2 Completeness and accuracy of the dossier

2.1 Administrative data

The name and address of the applicant (also the producer of the product) are: DSM Nutritional Products (registered as Roche Vitamins Ltd), Wurmisweg 576, CH-4303 Kaiseraugst, Switzerland. The company's postal address is PO Box 3255, CH-4002 Basel, Switzerland.

The dossier was submitted by a company called Bioresco Ltd (Food Scientific and Regulatory Services), Bundestrasse 29, CH-4054 Basel, Switzerland, which corresponded with the Committee on DSM's behalf.

2.2 General description of the food ingredient

Zeaxanthin is a yellowish-orange, naturally occurring plant pigment found in fruit and vegetables. Zeaxanthin belongs to the carotenoid group of substances, but lacks provitamin A activity. The zeaxanthin to which this application relates is chemically synthesised. The applicant supplies so-called composite ingredients containing synthetic zeaxanthin to food manufacturers, for use in a wide range of products. The end products made using these ingredients fall into three categories: food supplements, foods intended for a particular nutritional purpose and ordinary foods.

2.3 Classification of the food ingredient for assessment

The Committee agrees with the applicant's view that synthetic zeaxanthin should be regarded as a novel food ingredient, since it is made by means of a novel production process. It therefore falls within category f, as referred to in article 1, section 2, of the novel food regulations (EC97). According to the definition of the corresponding class 6, as referred to in Part I of Recommendation 97/618 of the European Commission (EC97a), a food or food ingredient should be regarded as 'novel' if the process brings about changes in its chemical composition or structure, which may affect its nutritional value, metabolism or level of undesirable substances. The applicant focused primarily on the latter topic in view of the possible introduction of contaminants or by-products, because the trans-zeaxanthin to which this application relates consists of a single chemically defined substance, which is identical to natural trans-zeaxanthin (see subsection 3.1). The Committee agrees with this approach.

According to the applicant, another reason for regarding synthetic zeaxanthin as a novel food ingredient is that, unlike its natural equivalent, it has no food matrix.

2.4 Information on the food ingredient

The applicant specified the information that is essential for a safety assessment of consumption of zeaxanthin in accordance with the themes prescribed in Recommendation 97/618 of the European Commission (EC97a).

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

The applicant provided an accessible commentary on each topic, with references to supporting data contained in appendices or scientific publications. The Committee has also consulted other biomedical scientific literature.

2.5 Brief summary provided by the applicant

The dossier included a brief summary, a copy of which was sent to each EU member state, in accordance with Article 6, section 2, of European Regulation (EC) 258/97 (EC97). It is appended to this advisory report on pages 38-45.

2.6 Other assessments

The synthetic zeaxanthin under assessment is already used in food supplements in the United States of America. In June 2001, the Food and Drug Administration (US FDA) accepted the premarket notification concerning this novel food ingredient. Synthetic zeaxanthin made by DSM has also been approved in Australia for use as an ingredient in alternative medicines, including food supplements. The Taiwanese authorities have similarly cleared zeaxanthin for use as an ingredient in food supplements.

At its 63rd meeting, in June 2004, the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) evaluated the safety of synthetic zeaxanthin made by DSM as a food additive and defined a safe upper limit on the use of the product for this purpose (FAO04; see subsection 3.8 of this report for further details).

2.7 Labelling proposal by the applicant

Labelling has to comply with Directive 2000/13/EC (EC00) and Article 8 of European Regulation (EC) 258/97 (EC97). In the Netherlands, a labelling proposal is discussed in the Regular Consultation on the Commodities Act. It is not therefore assessed by the Committee.

3 Interpretation and evaluation of the data submitted

3.1 I Specification of the novel food ingredient

Zeaxanthin, otherwise known as (3R, 3'R)-dihydroxy- β -carotene is a naturally occurring carotenoid with two terminal β -ionone rings. The most common form is characterised by the so-called trans configuration^a. The application under consideration relates to synthesised crystalline zeaxanthin, which according to the specification consists of at least 96 per cent 'all-trans' zeaxanthin and no more than 2 per cent cis-zeaxanthins^b. Both in the dossier and in this report, the terms 'zeaxanthin' and 'trans-zeaxanthin' are treated as synonymous and used to refer to 'all-trans' (3R, 3'R)-dihydroxy- β -carotene^a, unless otherwise indicated. Because dihydroxy- β -carotene contains two chiral carbon atoms (C-3 and C-3'), there are three stereoisomers of this compound. Zeaxanthin is one, and the others are the mesomeric form (3S, 3'R or 3R, 3'S) and the (3S, 3'S)-isomer. According to the applicant, traces of these other stereoisomers can also be found in the product in concentrations not exceeding 2 per cent and 0.1 per cent, respectively.

The product specification indicates that by-product residues can be present in small quantities as well (see subsection 3.2 for details). The three most common by-products are also carotenoids, which are found in a combined concentration not exceeding 1.1 per cent. In addition, the product may contain traces of triphenylphosphine oxide. The lead concentration does not exceed 2 mg/kg.

The applicant describes the main physical and chemical characteristics of crystalline zeaxanthin. It has the appearance of an orange-red powder. Its chemical formula is C₄₀H₅₆O₂ and its molecular weight is 568.9 daltons. The substance's CAS number is 144-68-3.

The dossier includes clear descriptions of the analytical methods used to determine the concentrations of the various components. The applicant provided compositional data on four representative batches of zeaxanthin synthesised in the period 1977 to 1985. These products easily met the specified purity criteria and were used as test substances for the various safety tests. The consistency of the production is apparent from compositional data provided on three recently synthesised batches (DSM04a). The purity of the zeaxanthin in these batches was roughly 97-99 per cent, and the applicant states that improvements to the production process have since further enhanced quality.

Zeaxanthin is not marketed in its pure crystalline form, but in a gelatine or starch matrix, or suspended in oil (see subsection 3.2).

^a Conjugated double carbon bonds exist in the form of cis-isomers and trans-isomers; the phrase 'all-trans' indicates that all the conjugated double carbon bonds in the molecule are of the trans form.

^b All zeaxanthin molecules with one or more double carbon bonds of the cis-form. The naturally occurring zeaxanthin found in our food consists of 15 per cent cis-isomers.

The Committee concludes that the product information in the dossier reliably describes the purity and quality of the zeaxanthin processed by the applicant to produce commercial preparations.

3.2 II Effects of the production process applied to the food ingredient

The dossier describes in detail the six steps in the chemical synthesis of zeaxanthin from smaller molecules. At the end of each step, the product is purified by precipitation, filtration and in relevant cases cleaning with an organic solvent or water; the product is then dried. The starting material and all intermediate products are identified and undergo physico-chemical characterisation. Following the final reaction step, the zeaxanthin isolated by filtration precipitates out. Re-crystallisation then occurs, resulting in a pure crystalline end product. Traces of the organic solvents used in the various synthesis reactions account for less than 0.2 per cent of this end product. Analytical data on the heavy metals present (< 20 mg/kg) indicate that the catalysts added are efficiently removed. During the reaction, other carotenoid-like compounds are also formed, small amounts of which may remain in the end product. The compounds in question are the by-products apo-12'-zeaxanthin (< 0.1 per cent), diatoxanthin (< 0.2 per cent) and parasiloxanthin (< 0.8 per cent). According to the applicant, the latter two compounds are also naturally occurring, being present in fish and shellfish. Another by-product, triphenylphosphine oxide, which is structurally unrelated to zeaxanthin, is present in a concentration of less than 100 mg/kg.

Pure crystalline zeaxanthin degrades under the influence of atmospheric oxygen and light. Concentrated zeaxanthin stored in darkness under the inert gas argon remains stable for a month at a temperature of 40°C, but for at least three years at a temperature of between -3°C and 5°C. With stability in mind, zeaxanthin is marketed only in special formulations suitable for further processing by food manufacturers (see appendix Summary dossier, page 41). The formulations in question are three zeaxanthin products: two powder preparations, one with a gelatine base, the other with a modified starch base, each with a zeaxanthin-content of 5 per cent, and a maize oil suspension with a zeaxanthin-content of 20 per cent. One or two permitted antioxidants are added to each of these products and thus account for 1-2 per cent of the saleable preparation. The antioxidants used include α -tocopherol, ascorbyl palmitate and sodium ascorbate. The dossier gives a detailed breakdown of the composition of each of these zeaxanthin preparations. At the Committee's request, the applicant also provided additional stability data (DSM04a). The zeaxanthin-contents of several batches of the various preparations have been analysed after storage periods of at least six months. The Committee notes that, in a starch matrix, zeaxanthin is stable at 15 and 40°C (when packaged in aluminium). Similarly, the zeaxanthin-content of a maize oil suspension remains constant (15°C). The longest storage period which has been evaluated involved zeaxanthin in a gelatine matrix, which was kept at 15°C for two years and exhibited no measurable signs of degeneration. The applicant also illustrated briefly that such zeaxanthin preparations remain stable for the first four to eight weeks after incorporation into foods such as

biscuits, yoghurt, orange juice and ice cream. Thereafter, the zeaxanthin-content in such products declines by roughly 4 to 8 per cent over 5 to 10 months. Zeaxanthin in food supplement tablets behaves in much the same way.

The Committee has studied the applicant's production process. The various stages are subject to careful monitoring to ensure that the end product meets the specified quality requirements. Before each of the different building blocks (starting materials and intermediate products) is processed any further, it is tested to check that it meets the applicable purity requirements. The critical process steps are clearly defined and, in the Committee's view, the risks are adequately managed. As indicated in subsection 3.8, the Committee agrees with the applicant's assertion that the by-products formed give no cause for concern for consumer health.

The Committee regards the market-ready zeaxanthin preparations as acceptably stable. It is worth emphasising that it is the applicant's responsibility to provide food product manufacturers with information regarding the storage life of zeaxanthin-enriched products, taking account of zeaxanthin's sensitivity to oxygen and light.

In summary, the Committee concludes that the applicant has satisfactorily demonstrated that crystalline zeaxanthin does not contain contaminants that are harmful to public health.

3.3 III History of the organism used as the source of the food ingredient

The zeaxanthin manufactured by DSM does not have a biological source, but is chemically synthesised.

3.4 IX Anticipated intake and extent of use of the food ingredient

The applicant reports that the various zeaxanthin preparations are intended for use as ingredients for food supplements, foods intended for a particular nutritional purpose and ordinary foods. Despite repeated requests from the Committee, the applicant has declined to specify the types of ordinary food in which the preparations might be used. The supplementary information provided by the applicant (DSM04b) includes advice for food manufacturers on the use of zeaxanthin. This advice indicates that food supplements and foods for particular nutritional uses should not contain more than 20 mg zeaxanthin per daily dose, or in the absence of recommendation of intake, 4 mg per portion. Where ordinary packaged foods are concerned, the applicant advises limiting the zeaxanthin content to 4 mg per portion. The applicant maintains that zeaxanthin should be regarded as a conditionally essential nutrient. Hence, it is argued, the use of zeaxanthin (like the use of vitamins and minerals) should be regulated by relating the added amount to a recommended or adequate amount (DSM04a, DSM04b, DSM05, EC02). The applicant believes that such an approach affords adequate assurance that daily consumption will not exceed the proposed maximum of 20 mg.

The Committee does not agree with the applicant on this point. To ascertain that the intake of a bioactive ingredient will remain within safe limits, the Committee in principle

requires information regarding the product range in which it will be used, the concentrations in the products concerned and the consumer groups for which those products are intended. The Committee has not evaluated the applicant's claim that zeaxanthin is a conditionally essential nutrient. The applicant wishes its zeaxanthin preparations to be used as widely as possible by end product manufacturers and is not targeting particular groups. In subsection 3.8, the Committee explains, by reference to physiological and toxicological data, why it supports the applicant's proposal to limit the intake of zeaxanthin to 20 mg per person per day. The Committee emphasizes that limiting zeaxanthin to 4 mg per portion of food product does not on its own provide adequate assurance that consumers will not exceed the 20 mg maximum. Hence, it is necessary to control intake by restricting the use of zeaxanthin preparations to a narrower, well-defined range of products, particularly in view of the indefinite nature of the portion size. The applicant wishes to leave the definition of portion sizes to the food manufacturers that enrich their products with zeaxanthin. The applicant also considers it unlikely that anyone will take a zeaxanthin supplement and eat zeaxanthin-enriched foods on the same day; no evidence to this effect (e.g. consumer research data) is presented, however.

The Committee has considered the arguments presented by the applicant in response to the Committee's request for supplementary information (DSM04a, DSM04b, DSM05). However, because the applicant did not wish as a matter of principle to estimate daily intake on the basis of a specified range of products, the Committee does not have sufficient data to complete its safety assessment.

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

3.5.1 Current exposure

The dossier states that zeaxanthin is a naturally occurring pigment found in fruit, vegetables and flowers. In chemical terms, zeaxanthin is a carotenoid^c. More specifically, it belongs to the xanthophyll sub-group (oxygenated carotenoids). After lutein^d, zeaxanthin is the most common xanthophyll in our food. The ratio between lutein and zeaxanthin varies widely from one food (or plant) to another. Important sources of zeaxanthin include oranges, mandarins, pumpkins, maize, spinach, cabbage, broccoli and green beans. Egg yolk is also rich in zeaxanthin.

The applicant provides a summary of typical daily levels of natural zeaxanthin intake. This information is based on food consumption data from a number of European countries. However, the analytical methods used to collect these data do not allow

^c β -carotene, lycopene and lutein are the main carotenoids found in human serum and tissue. Considerable quantities of zeaxanthin and β -cryptoxanthin are also found.

^d Lutein ((3R, 3'R, 6'R)-dihydroxy- β -carotene) and zeaxanthin share the same molecular formula, but differ in terms of the location of a double carbon bond in one of the terminal rings. They are what are known as isomeric compounds, with a comparable chemical structure but different properties. Both of these xanthophyll pigments are present in the retina, and they are often referred to collectively.

distinction to be made between zeaxanthin intake and the intake of the closely related chemical compound lutein. On the basis of the reported values for lutein intake or combined lutein and zeaxanthin intake, the applicant determines that average zeaxanthin intake is between 0.2 and 0.9 mg per person per day. According to the applicant, the people with the highest zeaxanthin intake are those who have a zeaxanthin-rich diet that includes a lot of fruit and vegetables; such people may consume as much as 1.8 mg zeaxanthin per day (95th percentile, North Italian population group).

The findings of various surveys carried out in the USA between 1988 and 1997 indicate that zeaxanthin intake in the general population is comparable with the lower end of the zeaxanthin intake range in Europe. Those whose diet includes the recommended daily amount of fruit and vegetables take in roughly twice as much zeaxanthin as those with a usual diet. This corresponds to intakes of 0.6 and 1.2 mg of zeaxanthin per day for, respectively, an average person and someone on the 90th percentile.

Outside the EU, food supplements are available that contain natural lutein with traces of zeaxanthin, and that contain synthetic zeaxanthin. However, no reliable data are available concerning the consumption of such products. The applicant reports that zeaxanthin intake via food supplements generally appears to be very low, since the levels of consumption recommended by the manufacturers do not exceed 2 mg per day. Since April 2003, however, supplements have been available in the USA, for which the recommended daily dose is 10 mg.

The Committee believes that the applicant has satisfactorily demonstrated that zeaxanthin is a normal part of our daily diet; the applicant has also satisfactorily indicated what the present levels of exposure are (albeit in fairly general terms, because of differences in the methods used by researchers to measure food consumption and differences in eating patterns between individuals and between member states). The zeaxanthin intake figures provided by the applicant are derived from data on the consumption of lutein or lutein and zeaxanthin together. The Committee notes that the applicant has assumed that lutein concentrations in food are on average five times as high as zeaxanthin concentrations. This assumption is justified by the applicant by reference to detailed analyses of individual food consumption performed in the period 1994 to 1996, and suggest that the lutein-to-zeaxanthin ratio in the average American's diet is 5.3 to 1. The Committee does not know whether the lutein-to-zeaxanthin ratio in the average European diet is comparable.

The dossier describes two studies that shed some light on zeaxanthin consumption in the Netherlands. The first was a cohort study of the elderly, in which the intake of specific carotenoids has been calculated (Gol98). The average combined lutein and zeaxanthin intake among the subjects amounted to 2.5 mg per person per day (SD 1.1). The findings of the other study, which involved individuals aged between twenty-five and forty-five, indicate that the median combined lutein and zeaxanthin intake in this age group is 2.9 mg per person per day (range: 1.4 to 3.0 mg) (O'Ne01). If zeaxanthin accounts for one sixth of the combined lutein and zeaxanthin intake, the levels of zeaxanthin consumption seen in the Netherlands are similar to those recorded in the USA, but lower than those typical for southern Europe.

3.5.2 Research involving human subjects

In the dossier, the applicant discusses the results of various studies involving human subjects; some of these studies are considered in the context of theme XI 'Nutritional value' and some in the context of theme XIII 'Toxicological information'. The Committee notes that only one of these studies was designed to evaluate safety. This evaluation was combined with a thorough analysis of the pharmacokinetic parameters to which the Committee refers in subsection 3.6. The study involved five male and five female volunteers, all healthy, who took a daily dose of 10 mg of synthetic zeaxanthin in capsule form over a period of forty-two days. The researchers recorded various characteristics of samples of the subjects' plasma taken the day before taking the first zeaxanthin capsule, on day 42 and following a recovery period on day 76. The analysis took in an extensive set of haematological parameters (numbers of white and red blood cells, blood platelets, haemoglobin, haematocrit), including coagulation parameters, and numerous clinical chemistry variables (such as glucose, total protein, albumin, urea nitrogen, LDH, total bilirubin, total cholesterol, triglycerides, sodium and potassium), including activity levels of various enzymes in order to check normal liver function (the transferases AST, GPT, gamma-GT and alkaline phosphatase). The subjects' urine was also tested to check a number of standard biochemical variables. The Committee believes that the applicant has correctly interpreted the results of the reported study, which was of a good scientific standard. The Committee agrees with the applicant's conclusion that the study found no evidence of zeaxanthin-related health problems or other adverse effects.

Other studies are reported by the applicant, in the context of which healthy volunteer subjects took doses of 10-30 mg zeaxanthin per day for two to six months. These studies were concerned primarily with the effect of elevated zeaxanthin intake on pigment density in the retina. One study involved synthetic zeaxanthin made by DSM, while two others involved microcrystalline zeaxanthin obtained from flavobacteria. The applicant concludes that, even at such high zeaxanthin doses, no functional impairment of the eye could be detected. Although the studies did not look at safety-related standard parameters and did not systematically record undesirable side-effects, the Committee notes that no adverse effects were reported in any of the studies. Prolonged exposure to raised zeaxanthin levels does not apparently trigger any specific health complaints.

The Committee has considered the results of the observational and epidemiological studies reported in the dossier. Most of the studies in question were concerned with the relationship between levels of dietary zeaxanthin intake and visual acuity or retinal pigment density. None of the researchers observed any abnormalities that might be relevant in the context of this safety assessment. The Committee considers the epidemiological research data presented by the applicant reassuring, since no positive associations have been observed between dietary (combined lutein and) zeaxanthin intake and the incidence of various types of cancer.

In summary, the Committee notes that there is a paucity of data on the behaviour of safety-related parameters following the exposure of humans to concentrated zeaxanthin.

However, the human research data that are available do not suggest that there are any reasons for concern regarding public health.

3.6 XI Nutritional information on the food ingredient

Zeaxanthin is a natural part of the human body and is found in many different types of tissue. The human body cannot synthesise zeaxanthin itself, but obtains it from ingested food. Like the other xanthophyll pigments, zeaxanthin does not exhibit provitamin A activity. There are particularly high concentrations of both zeaxanthin and lutein in the retina of the eye. The highest concentrations of these xanthophyll pigments are found in the central part of the retina, which is consequently known as the 'yellow spot'.

Based on published scientific data, the applicant describes the biological role of zeaxanthin. Zeaxanthin acts as an antioxidant and protects the photoreceptor cells (light-sensitive cells) against the harmful effects of the UV component of sunlight. Photo-oxidative stress induced by UV radiation can damage the photoreceptor cells, causing them to disintegrate and leading to the accumulation of waste products. This in turn impairs visual acuity. According to the applicant, a low zeaxanthin concentration in the yellow spot is one of the main causes of local retinal degeneration.

The dossier outlines how the human body absorbs zeaxanthin in the same way as other carotenoids and fat-soluble vitamins. First, the nutrient is separated from its matrix (food or synthetic preparation) and emulsified with fats. The cells of the intestinal wall absorb zeaxanthin from the globules of fat thus formed (micelles) and incorporate it into chylomicrons (lipoprotein particles). These are transported via the lymph to the liver, after which much of the zeaxanthin finds its way into the lipoprotein component of the blood. The biological availability of zeaxanthin depends not only on the composition of the matrix containing it, but also on other foods consumed at around the same time. It appears that the availability of zeaxanthin in food is generally quite low, and subject to considerable inter-individual variation. The applicant refers to various studies with human subjects, which are relevant in this context. One point to come out of these studies is that, while a zeaxanthin-rich diet (i.e. a diet that includes twice as much zeaxanthin as a traditional diet) does bring about a temporary increase in the amount of circulating zeaxanthin, baseline levels were no longer elevated after eight to fifteen weeks. The dossier presents the results of two pharmacokinetic studies involving ten healthy volunteers, each of whom was given 1 or 10 mg of synthetic zeaxanthin a day (in capsule form) for forty-two days. The half-life of zeaxanthin in the blood was found to be five to seven days. The steady-state plasma concentrations attained after roughly seventeen days were found to have increased by about four and nineteen times, respectively. It appears to be that increasing zeaxanthin intake by more than 1 mg does not lead to a proportionate rise in the zeaxanthin concentration in the blood.

It is known that carotenoids and other fat-soluble nutrients can influence one another's absorption. Recent studies with human subjects, the results of which are included in the dossier, have shown that taking in 10 mg of synthetic zeaxanthin per day does not adversely affect the absorption of other carotenoids, α -tocopherol (vitamin E) or

retinol (vitamin A). This observation is consistent with other research, which has demonstrated that the consumption of certain carotenoids present in vegetable-based foods or food supplements does not adversely affect the plasma levels of other carotenoids, certainly not in the medium term.

The Committee has examined the information contained in the dossier regarding the digestion, absorption and biological role of zeaxanthin, as extracted from recent scientific studies with laboratory animals and human subjects. On the basis of the results of unpublished research involving zeaxanthin and the related compound lutein, the applicant has determined that, once consumption rises above 20 mg per person per day, the increase in the amount of zeaxanthin absorbed ceases to be biologically relevant. The Committee would point out that the evidential basis for this conclusion is limited. The Committee has not examined the applicant's claim that zeaxanthin is a conditionally essential nutrient. According to the applicant, zeaxanthin is indispensable for the visual organ (the retina) to function properly, but it is not involved in vital functions of the body. However, it is not within the Committee's remit to establish whether zeaxanthin should be classified as a micronutrient. Zeaxanthin is not yet regarded as an essential nutrient like vitamins, minerals and trace elements.

The Committee agrees with the applicant's assertion that there is no difference between synthetic and natural zeaxanthin in terms of the way the substances are processed by the human body, and that the two substances should be regarded as equivalent in nutritional terms. The Committee does not anticipate that people who consume up to 20 mg of synthetic zeaxanthin per day will suffer any adverse consequences in nutritional terms.

3.7 XII Microbiological information on the food ingredient

The applicant argues that its zeaxanthin preparations are unlikely to support the growth of micro-organisms, due to the low moisture content of the products in question. At the Committee's request, the applicant provided details of the purity criteria (in terms of the potential presence of microorganisms) that outgoing product batches must meet (DSM04a). Testing for compliance is undertaken on a regular base. The Committee concludes that the microbiological quality of the product satisfies the applicable food safety standards.

3.8 XIII Toxicological information on the food ingredient

Zeaxanthin has been investigated to determine whether it possesses genetic, subchronic and reproduction toxic properties. The results of the standard tests performed are appended to the dossier and referred to by the applicant in the body of the document (see appendix Summary dossier, pages 42-44). All the tests were performed using synthetic zeaxanthin made by the applicant, the formulation of which differed slightly from that of the zeaxanthin preparations produced for human consumption. The test substance, which was mixed into the food given to laboratory mice, rats and dogs, or introduced directly to

the stomachs of laboratory monkeys and rabbits, was formulated specially for the purpose. The Committee takes the view that the zeaxanthin preparations tested were representative of commercially produced zeaxanthin. The Committee also concludes that the toxicity tests were performed with due care and that the applicant has correctly interpreted the results. The main results are outlined below.

Synthetic zeaxanthin is not mutagenic and does not cause chromosomal damage. This conclusion is based on four separate *in vitro* genotoxicity tests and one *in vivo* micronucleus test in the bone marrow of mice.

In the thirteen-week toxicological studies with mice, rats and dogs, no treatment-related effects were observed. In each test, the NOEL (no observed effect level) was found to be the highest tested dose, namely 1000 mg per kg body weight per day in mice and rats, and 420 mg/kg/day in dogs. In teratogenicity and embryotoxicity studies using laboratory rats and rabbits, no adverse effects were observed at the highest tested doses of synthetic zeaxanthin. The NOEL in rats was the same as that observed in the thirteen-week study, while in rabbits the NOEL was 400 mg/kg/day. In addition, prolonged exposure to zeaxanthin was not found to have any adverse effects in a fifty-two week study with monkeys. Thorough examination (including histopathology) of the monkeys' eyes revealed no toxicologically significant effects. In this study too, the NOEL was defined as the highest tested dose, namely 20 mg/kg/day. The Committee notes that a carcinogenicity study in experimental animals has not been performed.

The cis-isomers of zeaxanthin and the stereoisomers of trans-zeaxanthin (see subsection 3.1) are not toxicologically significant because of the small quantities involved; these compounds also occur naturally, the former in food and the latter in the retina. No evidence has yet been found to suggest that the cis-isomers of zeaxanthin have any specific biological function, and the stereoisomers are normal products of the metabolism of zeaxanthin. With regard to the main by-products potentially present in the end product (see subsection 3.2 for details), the applicant has presented sufficient evidence to support the assumption that their presence has no adverse health implications. The Committee agrees with the applicant's assertion that the results of the animal tests carried out using stored zeaxanthin from the first production run support the belief that any oxidation products formed have no toxic effects.

The results of the human research that is relevant to the assessment are discussed in subsection 3.5.2. Nothing abnormal was observed in the context of this research. Although it has no reason to believe that the daily consumption of synthetic zeaxanthin over a period of years might have any undesirable effects, the Committee would point out that no research data have been presented to confirm that such prolonged use is safe (Her05).

In June 2004, the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) evaluated the safety of using synthetic zeaxanthin as a food additive (FAO04). According to the JECFA, toxicological tests do not suggest that such use may have any adverse

effect. A group ADI^e of 0 to 2 mg per kg body weight per day was determined for lutein and zeaxanthin (FAO04). At the Committee's request, the applicant made available the dossier that was submitted to the JECFA in 2003 (DSM03). The Committee notes that the toxicological data base presented for the assessment of synthetic zeaxanthin as an additive is almost identical to that submitted with its application for authorisation as a novel food. The Committee emphasises that it has not been able to examine the results of the more extensive toxicological studies carried out with lutein, which the JECFA also evaluated. These results were critical in the calculation of the ADI (personal communication, JECFA secretariat).

According to the applicant, it is not physiologically relevant to take in more than 0.33 mg of zeaxanthin per kg body weight per day; this corresponds to a dose of 20 mg for an individual weighing 60 kg (see subsection 3.6 for details). The applicant accordingly proposes setting 20 mg as the upper limit of daily zeaxanthin intake (DSM04b, DSM05). The Committee agrees with the applicant's observation that this maximum intake would represent a level of exposure well below that which appears to be safe on the basis of the results of presented toxicological studies with the various species of laboratory animal (and taking standard safety factors into account). In its consideration, the Committee anticipates chronic daily intake of zeaxanthin by nutritionally conscious consumers (Her05). Because carcinogenicity tests on laboratory animals with zeaxanthin have not been carried out, the committee is of the opinion that it is technically not possible to determine a safe upper intake limit. It is however considered not very likely that the use of high doses zeaxanthine will cause adverse long-term effects. Especially with regard to the uncertainty of carcinogenic effects, the Committee refers to the evaluation of the JECFA. The latter committee concluded that lutein did not exhibit tumour promoting activity. The Dutch expert Committee does therefore not suspect comparable compounds like zeaxanthin to have carcinogenic properties. On the basis of all the data currently available, the Committee does not anticipate that daily consumption of up to 20 mg of synthetic zeaxanthin is liable to have any adverse effect on health.

^e 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.

Literature / Literatuur

- DSM03 JECFA Dossier of Zeaxanthin, 28 November 2003 (For the 63rd meeting June 8-17, 2004 Geneva). DSM Nutritional Products, 2003.
- DSM04 Zeaxanthin. Dossier prepared and submitted on behalf of DSM Nutritional Products, Switzerland, for evaluation pursuant to Regulation (EC) No. 258/97 on novel foods and novel food ingredients. Basel (Switzerland): Bioresco, May 18, 2004.
- DSM04a Zeaxanthin. Supplementary information. Basel (Switzerland): Bioresco, August 17, 2004.
- DSM04b Zeaxanthin. Letter with guidelines for conditions of use. Basel (Switzerland): Bioresco, November 9, 2004.
- DSM05 Zeaxanthin. Letter in reply to the request of December 8 of the Dutch expert Committee, 2004. Basel (Switzerland): Bioresco, February 8, 2005.
- EC97 Regulation (EC) No 258/97 of the European Parliament and of the Council of 27 January 1997 concerning novel foods and novel food ingredients. Official Journal of the European Communities 1997; L43: 1-6. Verordening (EG) nr. 258/97 van het Europees Parlement en de Raad van 27 januari 1997 betreffende nieuwe voedingsmiddelen en nieuwe voedselingrediënten. Publicatieblad van de Europese Gemeenschappen 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 of the European Communities 1997; L253: 1-36. Aanbeveling (EG) nr. 97/618/EG 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 voedselingrediënten 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.
- EC02 Directive 2002/46/EC of the European Parliament and of the Council of 10 June 2002 on the approximation of the laws of the Member States relating to food supplements. Official Journal of the European Communities 2002; L183: 51 – 57. Richtlijn 2002/46/EG van het Europees Parlement en de Raad van 10 juni 2002 betreffende de onderlinge aanpassing van de wetgevingen der lidstaten inzake voedingssupplementen. Publicatieblad van de Europese Gemeenschappen 2002; L183: 51 – 57.
- FAO04 Joint FAO/WHO Expert Committee on food additives, Sixty-third meeting, Geneva, 8-17 June 2004, Summary and Conclusions, see <http://www.who.int/ipcs/publications/jecfa/en/Summary63final.pdf>

- Gol98 Goldbohm RA, Brants HAM, Hulshof KFAM, van den Brandt PA. The contribution of various foods to intake of vitamin A and carotenoids in the Netherlands. *Internat J Vit Nutr Res* 1998; 68: 378-383.
- Her05 Hercberg S. The history of beta-carotene and cancers: from observational to intervention studies. What lessons can be drawn for future research on polyphenols? *Am J Clin Nutr* 2005; 81(Suppl): 218-222.
- O'Ne01 O'Neill ME, Carroll Y et al. A European carotenoid database to assess carotenoid intakes and its use in a five-country comparative study. *Br J Nutr* 2001; 85: 499-507.

The Committee / De commissie

- Prof. dr EG Schouten, *voorzitter tot 1 januari 2005 / chairman until January 1, 2005*
hoogleraar epidemiologie; Wageningen Universiteit en Researchcentrum
professor of epidemiology; Wageningen University and Research Centre
- Prof. dr CAFM Bruijnzeel-Koomen
hoogleraar dermatologie/allergologie; UMC Utrecht
professor of dermatology/allergology; University Medical Centre Utrecht
- Ir EJ Kok
toxicoloog; RIKILT Instituut voor Voedselveiligheid, Wageningen
toxicologist; RIKILT, Institute of Food Safety, Wageningen
- Dr CF van Kreijl
moleculair-bioloog; RIVM Bilthoven
molecular biologist; National Institute of Public Health and the Environment, Bilthoven
- Prof. dr P van der Laan
emeritus hoogleraar statistiek; Technische Universiteit Eindhoven
emeritus professor of statistics; Technical University Eindhoven
- Dr FM Nagengast
gastro-enteroloog; UMC St Radboud, Nijmegen
gastro-enterologist; University Medical Centre St Radboud, Nijmegen
- Dr ir JMA van Raaij
voedingsfysioloog; Wageningen Universiteit en Researchcentrum *en vanaf 1 januari 2005, RIVM Bilthoven*
food physiologist; Wageningen University and Research Centre *and from January 1, 2005, National Institute of Public Health and the Environment, Bilthoven*
- Prof. dr ir G Schaafsma
hoogleraar voeding; Wageningen Universiteit en Researchcentrum (*tot 1 januari 2005 TNO Voeding, Zeist*)
professor of nutrition; Wageningen University and Research Centre (*until January 1, 2005 TNO Nutrition and Food Research, Zeist*)
- Dr GJA Speijers
toxicoloog; RIVM Bilthoven
toxicologist; National Institute of Public Health and the Environment, Bilthoven
- Prof. dr WJ Stiekema
hoogleraar bioinformatica; Wageningen Universiteit en Researchcentrum
professor of bioinformatics; Wageningen University and Research Centre
- Ir R Top, *adviseur tot 1 januari 2005 / advisor until January 1, 2005*
Ministerie van VWS, Den Haag
Ministry of Health, Welfare and Sport, The Hague
- Prof. dr WM de Vos
hoogleraar microbiologie; Wageningen Universiteit en Researchcentrum
professor of microbiology; Wageningen University and Research Centre

- Dr RA Woutersen
toxicoloog, toxicologisch patholoog; TNO Kwaliteit van Leven, Zeist
toxicologist, toxicologic pathologist; TNO Quality of Life, Zeist
- Dr M Rutgers, wetenschappelijk beoordelaar / scientific assessor
Bureau Nieuwe Voedingsmiddelen, CBG, Den Haag
Novel Foods Unit, Medicines Evaluation Board, The Hague

Zeaxanthin

Application submitted on behalf of DSM Nutritional Products,
Switzerland, for evaluation pursuant to Regulation (EC) No.
258/97 on novel foods and novel food ingredients

Executive Summary

Author: Albert Bär PhD

Date: May 18, 2004

Introduction

Zeaxanthin is a yellow-orange, naturally occurring plant pigment which is found in green leafy vegetables such as spinach, cabbage and broccoli, yellow-orange fruits such as oranges and nectarines as well as in maize, pumpkin and yellow potato. In chemical terms, zeaxanthin is a carotenoid which belongs, more specifically, together with lutein, to the sub-group of xanthophylls (oxygenated carotenes). As such, it lacks provitamin A activity.

The average daily intake of zeaxanthin with the diet varies between about 0.2 and 0.9 mg in European countries. Higher intakes of about 4 mg/day were reported from South Pacific islands (Fiji).

Physiological function of zeaxanthin

In the human (and animal) body, zeaxanthin occurs in particularly high concentrations in the macula of the eye, the so called "yellow spot" of the retina. Together with lutein which also is accumulated in the retina of the eye, zeaxanthin protects the photoreceptors from the damaging effect of UV light (i.e. acts as a UV-filter) and quenches the deleterious free radicals and reactive oxygen species which are formed under the influence of light. Studies in monkeys fed a xanthophyll-free diet indicate that these monkeys in parallel with the lack of macular pigment and carotenoids in the plasma, had more drusen than the control monkeys. Drusen are considered to be signs of early age-related macular degeneration (AMD). Furthermore, fluorescein angiography demonstrated also some defects in the retinal pigment epithelium (RPE). Epidemiological studies in humans have shown that the density of macular pigment is inversely related to the risk of AMD, which is the

leading cause of debilitating loss of vision and blindness in the elderly.

Since the human body cannot synthesize zeaxanthin from other sources, it must be consumed with food much like a vitamin. However, unlike vitamins, zeaxanthin is not involved in vital functions of the body. Accordingly, zeaxanthin is considered to be a conditionally essential nutrient.

Synthetic zeaxanthin is a Novel Food

The subject of the present novel food application is pure, synthetic zeaxanthin [all-trans-(3R,3'R)- β,β -carotene-3,3'diol] which is produced by a multi-step chemical process. This product which has not been put on the European market so far, is considered to fall in the scope of the Novel Food Regulation (EC No. 258/97) on at least two accounts. First, synthetic zeaxanthin, unlike naturally occurring zeaxanthin, is not embedded in a plant matrix which may affect the bioavailability of zeaxanthin and, by its mere mass, will have a self-limiting effect on the intake of zeaxanthin. From this perspective, article 1(2)(e) of the Novel Food Regulation appears applicable. Second, synthetic zeaxanthin might contain undesirable by-products from the production process. From this perspective, article 1(2)(f) of the Novel Food Regulation appears applicable. Accordingly, a safety assessment of synthetic zeaxanthin is required based on information about its production process, specifications, estimated intake, nutritional properties and toxicological profile.

The chemical process by which zeaxanthin is synthesized from smaller molecules involves several steps all of which are carefully controlled to ensure a consistent purity and yield of the end-product. Synthetic, crystalline zeaxanthin has a

purity of 96.0-100.0% all-trans zeaxanthin. The content of cis-isomers is not more than 2.0%. The by-products have been identified. The three quantitatively most important by-products are carotenoids, two of which occur in nature (food). The third, apo-12'-zeaxanthinal, is present at an only low concentration of not more than 0.1% in synthetic zeaxanthin. Another, structurally unrelated by-product is triphenylphosphine oxide (TPPO) which is present at levels of not more than 100 ppm. TPPO is not mutagenic in Ames tests. With a NOAEL in 13-week oral toxicity studies in rats and dogs of 2 and 1.4 mg/kg bw/d, respectively, and an exposure from zeaxanthin of less than 20 mg/person/d, the safety margin is higher than 4×10^4 .

Intended use

Synthetic zeaxanthin is intended to be used for the production of so-called beadlets or an oily suspension with a zeaxanthin content of 5 and 20%, respectively. In the beadlets, zeaxanthin is finely dispersed and embedded in a matrix of gelatine, modified food starch, sucrose and/or other suitable materials which may be coated with starch. In the oily suspension, zeaxanthin is dispersed in corn oil. Both formulations contain added antioxidants (alpha-tocopherol, sodium ascorbate, ascorbyl-palmitate) in order to protect zeaxanthin from oxydation.

The dry beadlet powder and the oily suspension are, in regulatory terms, composed food ingredients consisting of zeaxanthin and traditional food ingredients. These composed ingredients may be incorporated by food manufacturers in food supplements, foods for a particular nutritional purpose and regular foods.

The stability of zeaxanthin in beadlets, oily suspension and model foods has been investigated. Good stability was observed

during typical conditions of food processing and storage. A method for the analysis of zeaxanthin in food has been developed which enables food manufacturers to check the stability of zeaxanthin in their particular food products.

Adequate Intake

Like for vitamins and other nutritive substances, the daily intake of zeaxanthin should cover the needs of the human body and provide maximum protection from the consequences of an undersupply, even under conditions of an enhanced need. However, the maximum intake may not exceed the upper safe limit of use and intakes should not be above nutritionally useful levels.

For zeaxanthin, an Adequate Intake (AI) of 2-20 mg/person/day is proposed. The AI includes the zeaxanthin intake from natural sources. The low value of this range corresponds to the intake of the 97.5th percentile consumer of a population with an intake that corresponds to the estimated average requirement. The higher value of this range is derived from studies on the pharmacokinetics of ingested zeaxanthin in humans which suggest that intakes of zeaxanthin above 20 mg/day would result in an under-proportional increase of plasma zeaxanthin concentrations (i.e., 20 mg/d is considered to be the maximum nutritionally useful dose).

Safety studies

The safety of synthetic zeaxanthin has been examined in a battery of in-vitro genotoxicity tests, an in-vivo micronucleus test in mice, acute oral toxicity tests in mice and rats, 13-week subchronic toxicity studies in mice, rats and dogs, a 52-week chronic feeding study in monkeys (aiming specifically at

ocular effects) and embryotoxicity/teratogenicity studies in rats and rabbits. Crystalline zeaxanthin was used for the in-vitro genotoxicity tests and the early acute toxicity studies. Beadlets with a 10% content of zeaxanthin were used in all other studies, except the embryotoxicity/teratogenicity study in rabbits in which the oily suspension was administered by gavage.

The in-vitro genotoxicity tests and the micronucleus test in mice gave uniformly negative results and thus have demonstrated that synthetic zeaxanthin lacks a genotoxic activity. In the subchronic 13-week toxicity studies and the embryotoxicity/teratogenicity studies, the highest dose level tested was invariably a NOAEL (13-weeks mouse and rats: 1000 mg/kg bw/d; 13-weeks dog: 422 mg/kg bw/d; reprotox rat: 1000 mg/kg bw/d; reprotox rabbit: 400 mg/kg bw/d). In view of the formation of crystalline deposits in the eye of humans and monkeys after ingestion of high doses of canthaxanthin, a 52-week toxicity study of zeaxanthin was conducted in *Cynomolgus* monkeys. Zeaxanthin was administered at doses of 0, 0.2 and 20 mg/kg bw/d. Detailed examination of the eyes during the study and at termination did not reveal any changes due to the treatment. The hematological and clinical chemical parameters, organ weights and histopathological examinations also did not reveal any treatment-induced adverse changes. Accordingly, the highest dose level tested (20 mg/kg bw/d) was determined to be NOAEL.

The upper safe level of intake (UL) may be calculated on basis of the 13-week subchronic rat study (16 animals/sex/dose), the 13-week subchronic dog study (3 dogs/sex/group), or the 52-week monkey study (2 monkeys/sex/group). Application of the traditional 100-fold safety factor to the NOAEL of the rat and dog study yields an UL of 10 and 4 mg/kg bw/d. Application of a 10-fold safety factor to the NOAEL of the monkey study yields

an UL of 2 mg/kg bw/d. These ULs are between 6 to 30-times higher than the maximum nutritionally useful intake of zeaxanthin (0.33 mg/kg bw).

Studies in humans have been carried out with zeaxanthin doses of up to 30 mg/d for periods of up to 4-6 months. While most of these studies were conducted in order to examine the effect of an increased zeaxanthin intake on the density of the macular pigment (a factor inversely related to the risk of AMD), the ophthalmic investigations also demonstrated that the treatment did not produce any adverse ocular effects.

The bioavailability of zeaxanthin and lutein in humans appears to be quite variable depending upon individual factors, the food matrix in which these xanthophylls are ingested, and effects of co-ingested food. In a preliminary study with administration of a single lutein dose (30 mg), an absorption of about 40% was observed. Considering the very similar chemical structure of lutein and zeaxanthin, a similar absorption may be expected for zeaxanthin. It also is known from studies in humans and rats that the bioavailability of zeaxanthin (and lutein) decreases with increasing dose. Thus, the zeaxanthin absorption may exceed 40% at the maximum nutritionally useful level (20 mg/person/d), if zeaxanthin is administered in beadlet form.

Conclusion

In conclusion, the safety of zeaxanthin has been investigated in a series of toxicity studies including in-vivo and in-vitro genotoxicity studies, acute and subchronic (13-week) toxicity studies in mice, rats and dogs, embryotoxicity/teratogenicity studies in rats and rabbits and a chronic (52-week) study in Cynomolgus monkeys. In all studies, the highest dose level

tested was invariably a NOAEL. Applying a safety factor of 100 to the NOAEL of the rodent studies, or 10 to the NOAEL of the monkey study, a UL of zeaxanthin of 2-10 mg/kg bw/d is calculated. These values are many times higher than the maximum nutritionally useful intake of zeaxanthin (0.33 mg/kg bw/d).

On this basis, the intended use of synthetic zeaxanthin in beadlets and oily suspension (destined for incorporation in food supplements, foods for a nutritional purpose and regular foods, and resulting in an intake of not more than 20 mg/person/day) is considered to not present a significant risk for human health.