

## ZNANSTVENO MIŠLJENJE

Znanstveno mišljenje o upotrebi proizvoda koji se dobivaju od  
sušenog lista biljke *Stevia rebaudiana* Bertoni

Radna grupa za donošenje znanstvenog mišljenja

(Zahtjev HAH – Z – 2012-6)

Usvojeno 22. veljače 2013.

### ČLANOVI RADNE GRUPE

prof. dr. sc. Nada Vahčić, prof. dr. sc. Irena Colić Barić, prof. dr. sc. Zdenka Kalodjera, dr. sc. Hrvoje Fulgosi, dr. sc. Marinko Bilušić

### KOORDINATOR IZ HAH-a

Andrea Gross-Bošković, dipl. ing.

### SAŽETAK

Na razini Europe, Odlukom Europske komisije COMMISSION DECISION od 22 veljače 2000., člankom 1, odbija se stavljanje biljke *Stevia rebaudiana* (Bertoni) i njezinog suhog lišća na tržište kao hrane ili sastojka hrane, budući da ju uredba Europske komisije (EC) 258/97 svrstava u novu hranu.

Nakon ove odluke izrađene su brojne toksikološke studije o utjecaju na zdravlje steviozida i rebaudiozida A. EFSA-in panel za prehrambene aditive i prirodne tvari dodane hrani izradio je znanstveno mišljenje o sigurnosti steviol glikozida u svrhu korištenja kao prehrambenog aditiva.

Rod *Stevia* pripada porodici *Asteraceae*, rod *Eupatoriae*, a sastoji se od 150-300 vrsta višegodišnjih biljaka koje većinom rastu na visinama od 500 – 3000 metara na polusuhim planinskim terenima. Vrste mogu rasti i na livadnim područjima, rubnim šumskim područjima te u subalpskim područjima. *Stevia rebaudiana* (Bertoni) je u potpunosti rod Novog svijeta budući da njezino širenje seže od južnih dijelova SAD-a i sjeveroistočnog dijela Paragvaja, preko jugoistočnog dijela Brazila i Meksika, pa do Srednje Amerike, južnoameričkih Anda i brazilskih visoravni.

Iz biljke se dobiva slatki vodeni ekstrakt koji sadrži različite glikozide zbog čega su ga Guarana domoroci koristili stoljećima kao dodatak biljnim čajevima i ostalim napitcima. Osim toga, koristili su je i za liječenje rana te šećerne bolesti. I danas se još uvijek uzgaja u Paragvaju, Meksiku, Srednjoj Americi, Japanu, Kini, Maleziji i Južnoj Koreji. Također postoje podaci da se na području Europe uzgaja u Španjolskoj, Belgiji i Velikoj Britaniji. Lišće stevije i ekstrakt iz lišća imaju dugu tradiciju uporabe kao zaslađivača širom svijeta (Centralna i Južna Amerika, Japan, Koreja, Kina, Jugoistočna Azija) bez negativnih učinaka.

Brojna istraživanja govore o hipoglikemijskom učinku ekstrakta biljke *Stevia rebaudiana*, djelovanju steviozida i steviola na apsorpciju i sintezu glukoze, učinku na sekreciju inzulina i inzulinsku osjetljivost, antihipertenzivnom učinku te brojnim drugim pozitivnim učincima. Međutim, trebalo bi napraviti i razmotriti studije koje bi uključile uzimanje steviozida kao i njegovog metabolita steviola, kroz duži vremenski period. Osim toga, potrebna su daljnja istraživanja učinkovitosti, sigurnosti, djelovanja na glikemiju, te posljedica dugotrajne konzumacije steviozida.

Stoga, slijedom ranije navedenih činjenica o složenom kemijskom sastavu biljke kao i raspoloživim znanstvenim spoznajama, još uvijek nema dovoljno čvrstih znanstvenih dokaza o sigurnoj uporabi suhog lišća biljke *Stevia rebaudiana* kao monodroge.

Ulaskom Hrvatske u EU primjenjivati će se i za hrvatsko tržište Uredba o zabrani stavljanja na tržište biljke *Stevia rebaudiana* (Bertoni), Commission decision 2000/196/EC.

Biljna vrsta *Stevia rebaudiana* (Bertoni) trenutno se nalazi na listi dozvoljenih biljnih vrsta, Prilog III, Pravilnika o dodacima prehrani (NN 46/11), iz čega proizlaze i mogućnosti njenog legalnog korištenja u smjesi ostalih dozvoljenih biljnih vrsta u oblicima i na način kako propisuje Pravilnik.

List biljke *Stevia rebaudiana* (Bertoni) može se koristiti kao dodatak prehrani u svrhu zaslađivanja, a proizvodima iz lišća te biljke ne smiju se pripisivati svojstva prevencije, terapije ili liječenja bolesti ljudi ili upućivati na takva svojstva.

Navedeni proizvodi moraju biti označeni sukladno Pravilniku o označavanju, reklamiranju i prezentiranju hrane (NN 63/11, 79/11).

## KLJUČNE RIJEČI

*Stevia rebaudiana* (Bertoni), suho lišće biljke *Stevia rebaudiana* (Bertoni), steviozidi, steviol, rebaudiozid A

## SUMMARY

At the European level, the Commission Decision of 22 February 2000, Article 1, refused to put the plant *Stevia rebaudiana* (Bertoni) and its dry leaves on the market as food or food ingredient, because the European Commission Regulation (EC) 258/97 classified it as novel food. Following this Decision, numerous toxicological studies on the effects on health of stevioside and rebaudioside A were conducted. EFSA's Panel on Food Additives and Nutrient Sources Added to Food (ANS) issued a scientific opinion on the safety of steviol glycosides for the proposed uses as a food additive.

*Stevia* genus belongs to the family *Asteraceae*, gender *Eupatoriae*, consisting of 150-300 species of perennial plants that mostly grow at altitudes of 500-3000 meters in semi-arid mountainous terrain. The species can also grow in meadows, forest borders, and in the subalpine areas. *Stevia rebaudiana* (Bertoni) is a wholly New World genus since its habitat extends from the southern parts of the U.S. and the north-eastern Paraguay, through the southeastern part of Brazil and Mexico, to Central America, South American Andes and the Brazilian highlands.

The leaves yield a sweet aqueous extract that contains various glycosides, which is the reason that Guarani natives have been using it for centuries as a sweetener for herbal teas and other beverages. In addition, they have used it to treat wounds and diabetes. Today, the plant is grown in Paraguay, Mexico, Central America, Japan, China, Malaysia and South Korea. As for Europe, there are data of cultivation in Spain, Belgium and the UK. *Stevia* leaves and leaf extract have a long tradition of use as a sweetener around the world (Central and South America, Japan, Korea, China, Southeast Asia) without any adverse effects.

Numerous studies speak of the hypoglycemic effect of extract of the plant *Stevia rebaudiana*, the stevioside and steviol effect on the glucose absorption and synthesis, the effect on insulin secretion and insulin sensitivity, antihypertensive effects, and many other positive effects. However, other studies should be considered that involve consuming stevioside and its metabolite steviol for a longer period of time.

In addition, further research is needed on the effectiveness, safety, effects on glycemia, and the consequences of long-term consumption of stevioside.

Following the previously mentioned facts about the complex chemical composition of the plant and the available scientific knowledge, it can be concluded that there is still insufficient scientific evidence regarding the safe use of dried leaves of *Stevia rebaudiana* as a monodrug.

When Croatia joins the EU, the regulation which prohibits *Stevia rebaudiana* (Bertoni) to be placed on the market as food or food ingredient (according to the Commission Decision 2000/196/EC) will be applied in the Croatian market as well.

The plant species *Stevia rebaudiana* (Bertoni) is currently on the list of permitted species, Annex III, of the Regulation on dietary supplements (O.J. 46/11), which justifies the possibility of its legal use in the mixture of other allowed plant species, in the forms and in the manner prescribed by this Regulation.

The leaves of *Stevia rebaudiana* (Bertoni) can be used as a dietary supplement for sweetening, but products from the leaves of this plant must not be attributed the properties of prevention, treatment or cure of human diseases, and producers are not allowed to refer to such properties.

These products must be labeled in accordance with the Regulation on labeling, marketing and presenting of food (O.J. 63/11, 79/11).

**KEY WORDS**

*Stevia rebaudiana* (Bertoni), *Stevia rebaudiana* (Bertoni) dry leaves, steviosides, steviol, rebaudioside A

## SADRŽAJ

	stranica
<b>SAŽETAK</b>	1
<b>SUMMARY</b>	3
<b>POZADINA SLUČAJA</b>	6
<b>ZAHVALE</b>	6
<b>UVOD</b>	7
<b>Pregled stanja u Europskoj uniji</b>	7
<b>PROCJENA RIZIKA</b>	8
<b>1. Identifikacija opasnosti</b>	8
1.1. Porijeklo biljke <i>Stevia rebaudiana</i> (Bertoni)	8
1.2. Sastav biljke <i>Stevia rebaudiana</i> (Bertoni)	8
1.3. Učinak na zdravlje	10
1.3.1. Hipoglikemijski učinak	10
1.3.2. Utjecaj na apsorpciju glukoze	10
1.3.3. Utjecaj na sintezu glukoze	11
1.3.4. Utjecaj na sekreciju inzulina i inzulinsku osjetljivost	11
1.3.5. Antihipertenzivni učinak	13
1.3.6. Ostali učinci	15
1.4. Tehnološki podaci	16
1.5. Zakonodavstvo	16
<b>2. Karakterizacija opasnosti</b>	16
2.1. Toksikološka evaluacija	16
<b>3. Procjena izloženosti</b>	17
3.1. Unos	17
3.2. Nutritivne implikacije	17
<b>4. Karakterizacija rizika</b>	18
<b>ZAKLJUČCI</b>	19
<b>LITERATURA (REFERENCE)</b>	20

## POZADINA SLUČAJA

Izrada znanstvenog mišljenja potaknuta je od strane Hrvatske agencije za hranu, temeljem Pravilnika o izdavanju znanstvenog mišljenja i pružanja znanstvene i tehničke pomoći (NN 130/09), čl. 3. st. 2., a odnosi se na mogućnosti korištenja sušenog lišća biljne vrste *Stevia rebaudiana* (Bertoni)

Na inicijativu Hrvatske agencije za hranu, na 26. sjednici Znanstvenog vijeća usvojen je zaključak o formiranju radne grupe o izradi predmetnog znanstvenog mišljenja. Radna grupa je temeljem dostavljenih materijala, ali i ostalih raspoloživih znanstvenih i stručnih publikacija, raspravila postavljeni zahtjev te dostavila traženo mišljenje u predviđenom roku.

Pravilnikom o dodacima prehrani (NN 46/11), biljka *Stevia rebaudiana* (Bertoni) svrstana je na Listu dozvoljenih biljnih vrsta (Prilog III), iz čega proizlaze i mogućnosti njenog legalnog korištenja u smjesi ostalih dozvoljenih biljnih vrsta u oblicima kako propisuje Pravilnik (Ministarstvo zdravstva i socijalne skrbi, 2011). Naime, prilikom donošenja Znanstvenog mišljenja o mogućnosti korištenja biljke *Stevia rebaudiana* (Bertoni), Z-2009-6, od 08. srpnja 2010., odnosno prilikom donošenja mišljenja o upotrebi steviol glikozida kao sladila koja su dobivena ekstrakcijom iz lišća biljke *Stevia rebaudiana* (Bertoni), zaključeno je kako je još uvijek nedovoljno pouzdanih znanstvenih dokaza o sigurnoj upotrebi biljke *Stevia rebaudiana* (Bertoni) ili njezinog suhog lišća kao monodroge te je njezino korištenje moguće jedino u smjesi ostalih dozvoljenih biljnih vrsta u oblicima kako propisuje Pravilnik.

Kako se u međuvremenu pokazalo da se na tržištu pojavio značajan broj proizvoda u obliku suhog lista biljke *Stevia rebaudiana* (Bertoni), Hrvatska agencija za hranu pokrenula je izradu ovog znanstvenog mišljenja sa ciljem davanja znanstvenog savjeta te pružanja znanstvene potpore zakonodavstvu za pripremanje i usvajanje mjera vezanih uz navedeno pitanje.

Odlukom Europske komisije COMMISSION DECISION od 22. veljače 2000., člankom 1., odbija se stavljanje biljke *Stevia rebaudiana* (Bertoni) i njezinog suhog lišća na tržište kao hrana ili sastojak hrane, budući da ju uredba Europske komisije (EC) 258/97 svrstava u novu hranu (EC Commission, 2000; EC, 1997). Međutim, sudeći po odgovorima prikupljenima preko EFSA Focal Point mreže, neke zemlje članice još provode dodatna istraživanja po ovom pitanju.

## ZAHVALE

Hrvatska agencija za hranu zahvaljuje svim članovima Radne grupe na doprinosu u izradi ovog znanstvenog mišljenja.

## UVOD

### Pregled stanja u Europskoj uniji

Znanstveni odbor za hranu Europske komisije zaprimio je 1997. zahtjev za stavljanje na tržište biljke i sušenog lišća biljke *Stevia Rebaudiana* (Bertoni) kao nove hrane, unutar Uredbe 258/97 u pogledu nove hrane i novih sastojaka hrane (EC, 1997). "Uredba o Novoj hrani" određuje da se za prehrambeni proizvod iz drugih kulturoloških područja mora pokazati da nije štetan za zdravlje prije nego se stavi u promet na tržište. Za složene prirodne proizvode poput stevije uglavnom je nemoguće osigurati takve dokaze jer bi troškovi takvog istraživanja bili vrlo visoki. Stoga je zahtjev 1999. godine odbijen s objašnjenjem da nije bilo dovoljno podataka koji bi jamčili potpunu neškodljivost za zdravlje tog proizvoda/biljke kao dodatka hrani ili kao zamjene za saharozu kod dijabetičara i pretilih osoba (EC Scientific Committee on food, 1999).

Od 2000. godine *Stevia Rebaudiana* (Bertoni) biljka i sušeno lišće smatraju se novom hranom prema Uredbi 258/97. Budući da nije dokazano da proizvod zadovoljava kriterije članka 3. Uredbe, ne može se staviti na tržište Unije kao hrana ili dodatak hrani. Stoga je odluka Komisije od 22.02.2000. da se odbija stavljanje na tržište *Stevia Rebaudiana* (Bertoni): biljke i sušenog lišća kao nove hrane ili novog sastojka hrane (EC Commission, 2000).

Nakon toga izrađene su brojne toksikološke studije o utjecaju steviozida i rebaudiozida A na zdravlje. EFSA-in panel za prehrambene aditive i prirodne tvari dodane hrani izradio je znanstveno mišljenje o sigurnosti steviol glikozida u svrhe korištenja kao prehrambenog aditiva (EFSA, 2010). Uzevši u obzir sva dotad napravljena znanstvena *in vitro* i *in vivo* istraživanja na životinjama i ljudima Panel je zaključio da steviol glikozidi: rebaudiozid A i steviozid (97%-tne čistoće) nisu kancerogeni, genotoksični niti reproduktivno toksični. Utvrdili su i ADI za steviol glikozide izraženo kao steviol ekvivalenti od 4 mg/kg t.m. dnevno. Tijekom 2011. EFSA je napravila reviziju procjene izloženosti steviol glikozida u svrhu korištenja kao prehrambenog aditiva za djecu i odraslu populaciju (EFSA, 2011). Korekcija se smatrala neophodnom zbog konzumacije bezalkoholnih aromatiziranih pića kod djece. U studenom 2011. godine Uredbom Komisije br. 1131/2011 (EC, 2011) dopunjuje se prilog II Uredbe (EZ) br. 1333/2008 (EC, 2008) Europskog parlamenta i Vijeća obzirom na steviol glikozid (E 960) koji postaje prehrambeni aditiv u skupini «sladila» dozvoljen u određenim kategorijama hrane s navedenim maksimalnim količinama i ograničenjima za svrhu uporabe. Također, Uredbom (EZ) br. 872/2012 (EC, 2012), koja će se početi primjenjivati od 22. travnja 2013., dozvoljava se korištenje glikozida rebaudiozida A kao tvari arome u hrani. Međutim, i dalje je u svim zemljama članicama EZ-a na snazi odluka komisije 2000/196/EC (EC Commission, 2000) kojom se odbija stavljanje na tržište *Stevia Rebaudiana* (Bertoni) biljke i sušenog lišća kao nove hrane ili novi sastojak hrane, a prema Uredbi EZ br. 258/97 (EC, 1997). Stoga se biljke i sušeno lišće *Stevia Rebaudiana* (Bertoni) ne mogu stavljati na tržište zemalja članica Unije.

## PROCIJENA RIZIKA

### 1. Identifikacija opasnosti

#### 1.1. Porijeklo biljke *Stevia rebaudiana* (Bertoni)

Rod *Stevia* pripada porodici *Asteraceae*, rod *Eupatoriae*, a sastoji se od 150 do 300 vrsta višegodišnjih biljaka koje većinom rastu na visinama od 500 do 3000 metara na polusuhim planinskim terenima. Vrste mogu rasti i na livadnim područjima, rubnim šumskim područjima te u subalpskim područjima. *Stevia rebaudiana* (Bertoni) je u potpunosti rod Novog svijeta budući da njezino širenje seže od južnih dijelova SAD-a i sjeveroistočnog dijela Paragvaja, preko jugoistočnog dijela Brazila i Meksika, pa do Srednje Amerike, južno američkih Anda i Brazilskih visoravni.

Iz biljke se dobiva slatki vodeni ekstrakt koji sadrži različite glikozide zbog čega su ga Guarana domoroci koristili stoljećima kao dodatak biljnim čajevima i ostalim napitcima. Osim toga, koristili su je i za liječenje rana te šećerne bolesti (Soejaro, 2002). I danas se još uvijek uzgaja u Paragvaju, Meksiku, Srednjoj Americi, Japanu, Kini, Maleziji i Južnoj Koreji. Također, postoje podaci da se na području Europe uzgaja u Španjolskoj, Belgiji i Velikoj Britaniji (Geuns, 1998; Kinghorn, 1992).

Budući da biljka ne podnosi zimske uvjete, u Europi se uzgaja kao lisnati nasad u stakleničkim uvjetima. Umnožava se vanjskim rastom aksijalnih pupoljaka te se reže i bere nakon 3 - 4 mjeseca uzgoja. Koriste se gornji dijelovi svježe biljke te suhi i u prah smrvljeni listovi. Komercijalno osušeni listovi mogu sadržavati i male količine cvijeta, stabljike i sjemenki.

Tu drevnu južno američku biljku prvi je botanički klasificirao i detaljno opisao 1899. godine Moises Santiago Bertoni. Prvotno nazvana *Eupatorium rebaudianum* mijenja ime 1905. godine u *Stevia rebaudiana* (Bertoni). Njene slatke komponente izolirane su prvi put 1909. godine, 1931. godine dobiven je čisti ekstrakt steviozida čija je kemijska struktura utvrđena tek 1952. godine. Tijekom sedamdesetih godina prošlog stoljeća izolirani su i drugi spojevi uključujući i rebaudiozid A koji je slađi od steviozida (Lemus-Mondaca i sur., 2012).

#### 1.2. Sastav lista biljke *Stevia rebaudiana* (Bertoni)

Nema dostupnih podataka o geografskom porijeklu materijala, sastavu i proizvodima komercijalno sušenog lista, kultiviranoj vrsti kao ni o najnižim granicama za steviozide u proizvodu.

Sastav komercijalnog proizvoda biljke nije standardiziran u odnosu na bilo koju komponentu, osobito ne steviozida, i o tome ne postoje analitički podaci. Nisu opisane toksične komponente i ne postoje analitički dokazi o sastavu proizvoda.



U botaničkom smislu biljka je dobro identificirana. List stevije sadrži složenu smjesu prirodnih slatkih diterpenskih glikozida – steviozida (4-13% suhe tvari), steviolbiozida (u tragovima), rebaudiozida A (2-4%), rebaudiozida B (u tragovima), rebaudiozida C (1-2%), rebaudiozida D, E, i F (u tragovima) i dulkozida A (0,4 – 0,7%). Suhu tvar čine proteini (6,2%), lipidi (5,6%), ukupni ugljikohidrati (52,8%), steviozidi (15%) i oko 42% tvari topljive u vodi (Geuns, 2003).

Svi ovi izolirani diterpenski glikozidi imaju istu osnovnu strukturu (steviol), a razlikuju se po šećernom ostatku na položajima C 13 i C 19. Steviozid je 300 puta slađi od šećera, a rebaudiozid A 250 – 400 puta. Udio svih steviol glikozida u suhom lišću stevije kreće se i do 20% pri čemu ima najviše steviozida i rebaudiozida A (Makapugay, Nanayakkara i Kinghorn, 1984). Prinosi ta dva spoja iz suhog lišća mogu biti od 5 do 22% za steviozid i 25-54% za rebaudiozid A, što naravno ovisi o genotipu i uvjetima uzgoja (Kennelly, 2002; Ohta i Sasa, 2010). Danas, zahvaljujući suvremenim analitičkim tehnikama, otkriveno je već više od 30 steviol glikozida, ali i stotinjak drugih spojeva iz skupine neglikozidnih diterpena (diterpeni labdan tipa, sterebini A do N, austroinulin), polifenola (pirogalol, 24 klorogenske kiseline, flavonola i flavona), vitamina (folna i askorbinska kiselina, vitamin B2, B6, niacin i tiamin), fitosterola ( $\beta$ -sitosterol, stigmasterol, lanosterol), triterpena ( $\beta$ -amirin), hlapljivih spojeva (9 ugljikovodika i 4 alifatska alkohola, 40 spojeva identificiranih u uljnoj frakciji), polihidroksi indozilidin alkaloid (steviamin), minerala (kalcij, fosfor, kalij natrij, željezo, magnezij, cink), 17 aminokiselina (arginin, lizin, histidin, fenil-alanin, leucin, metionin, valin, treonin, izoleucin, aspartat, serin, glutamate, prolin, glicin, alanin, cistein, tirozin) izuzev triptofana, masnih kiselina (oleinska, linolna, linolenska, stearinska, palmitinska i palmitolinolna). Za sve navedene komponente pretpostavlja se da imaju značajnu fiziološku ulogu u ljudskom tijelu (Lemus-Mondaca i sur., 2012; Wölwer-Rieck, 2012).

Ekstrakt lišća stevije posjeduje i veliku antioksidativnu aktivnost bez obzira na metodu kojom je ona dokazana (DPPH, ABTS, TEAC, FRAP) te ima značajan potencijal za korištenje kao prirodni antioksidans.

Stevija sadrži i 2 antinutrijenta - oksalnu kiselinu i tanine.

Osim toga, stevija može izazvati alergijske reakcije kod ljudi osjetljivih na biljke iz porodice krizantema (*Asteraceae*). Također se ne preporuča njena konzumacija u trudnoći.

Lišće stevije i ekstrakt iz lišća imaju dugu tradiciju uporabe kao zaslađivača širom svijeta (Centralna i Južna Amerika, Japan, Koreja, Kina, Jugoistočna Azija) bez negativnih učinaka. Mnogo značajniju ulogu kao zaslađivači imaju steviozid i rebaudiozid A visoke čistoće (97%) za koje je dokazano da su netoksični, nemutageni i nekarcinogeni te se koriste u industriji pića, slastica, konditorskoj i mljekarskoj industriji, pekarstvu, pri spravljanju umaka i deserta i sl. (Lemus-Mondaca i sur., 2012; Wölwer-Rieck, 2012).

### 1.3. Učinak na zdravlje

Glikozidi stevije imaju brojne povoljne fiziološke učinke. Redovan prehrambeni unos rezultira poželjnijim razinama glukoze i kolesterola u krvi, glikozidi stevije pomažu u izlučivanju radionuklida, povoljno utječu na regeneraciju stanice, proces koagulacije krvi, potiskuje razvoj neoplazmi, funkciju krvnih žila. Također, povoljan je utjecaj na metabolizam žuči i upalne procese, imaju diuretična svojstva, preveniraju ulceraciju u gastrointestinalnom traktu, imaju ulogu u liječenju hipertenzije i hiperglikemije, imaju antiviralnu aktivnost (na rotaviruse), povoljan utjecaj na glikemiju i bubrežnu funkciju. Imaju potencijala u terapiji dijareje. Dodatno, biljka i steviozidi se mogu uključiti u dijetoterapiju i liječenje karcinoma te su moguća alternativa saharozu kod dijabetesa, gojaznosti i hipertenzije. Također, imaju antikariogeni učinak te inhibiraju pojavu upale zubnog mesa – gingivitisa (Lemus-Mondaca i sur., 2012; Wölwer-Rieck, 2012).

Brojna istraživanja govore o hipoglikemijskom učinku ekstrakta biljke *Stevia rebaudiana*, djelovanju steviozida i steviola na apsorpciju i sintezu glukoze, učinku na sekreciju inzulina i inzulinsku osjetljivost te antihipertenzivni učinak.

#### 1.3.1. Hipoglikemijski učinak

Studija Susuki-ja i sur. je pokazala, da 0.5 g steviozida i 10 g listova stevije u prahu, nakon 4 tjedna liječenja, značajno smanjuje razinu glukoze u krvi kod štakora koji su bili na dijeti s visokim udjelom masnoća i kod onih na dijeti s visokim udjelom ugljikohidrata (Susuki, Kasai i Sumihara, 1977). Istraživanje o djelovanju vodenog ekstrakta lista stevije na test tolerancije glukoze kod ljudi pokazalo je da uzimanje 5 g vodenog ekstrakta stevije, svakih 6 sati tijekom 3 dana, dovodi do pada razine glukoze u plazmi mjerenjem glukoze natašte i mjerene kao test tolerancije glukoze kod svih zdravih ispitanika (Curi, 1986). Ova razmatranja potvrđuju ranije pretpostavke da se steviozid i ekstrakt stevije mogu koristiti u liječenju dijabetesa.

#### 1.3.2. Utjecaj na apsorpciju glukoze

Istraživanje o djelovanju steviozida i steviola na apsorpciju glukoze *in vitro* pokazalo je da steviozid u visokoj dozi od 5 mM, nema inhibitorni učinak na apsorpciju glukoze dok 1 mM steviola inhibira apsorpciju glukoze za oko 40 %. Steviol smanjuje nakupljanje glukoze u crijevnom tkivu, vjerojatno djelujući na četkastu stranu membrane, slično kao florizin. Nadalje, steviol mijenja i morfologiju crijevnih apsorpcijskih stanica. Ovi rezultati ukazuju da je moguće mjesto inhibitornog djelovanja steviola na mukoznoj (bazalnoj) membrani i/ili na luminalnoj membrani unutarstaničnih organela crijevnih apsorpcijskih stanica. Studija iste grupe istraživača pokazala je, da steviozid kod hrčka, u dozama od 1 mM i 5 mM, ne inhibira apsorpciju glukoze u jejunumu, dok je 1 mM steviola inhibirao apsorpciju glukoze za oko 30 %, pri tome ne djelujući na aktivnost

crijevne Na–K-ATP-aze. Opažena je redukcija ATP-a u mukozi i smanjenje apsorpcijske površine. Istraživači su zaključili da steviol smanjuje apsorpciju glukoze tako što smanjuje sadržaj ATP-a u mukozi crijeva i mijenja morfologiju apsorpcijskih stanica crijeva. Smanjenje ATP-a je pak posljedica smanjene aktivnosti enzima u mitohondrijima crijeva na razini fosforilacije. Smanjenje apsorpcije glukoze iz crijeva, rezultiralo bi smanjenjem razine glukoze u krvi, što s druge strane, može biti nepoželjno kod zdravih ljudi (Toskulkao, Sutheerawatananon i Piyachaturawat, 1995). Međutim, kod prihvatljivog dnevnog unosa (ADI) steviozida od 4 mg/kg t. m./dan (EFSA, 2010), maksimalna koncentracija steviola iznosi oko 20 µM i to ako je sav steviozid pretvoren u steviol što predstavlja puno nižu koncentraciju steviola od one za koju je dokazano da smanjuje apsorpciju glukoze.

### 1.3.3. Utjecaj na sintezu glukoze

Učinak steviozida na sintezu glukoze istražavan je na dvije skupine štakora kod kojih je izazvan dijabetes tip 1 (inzulin ovisnih) i tip 2 (inzulin neovisnih). Steviozid je smanjio visoke razine glukoze u krvi štakora oboljelih od oba tipa dijabetesa. Hipoglikemijski učinak steviozida kod štakora s dijabetesom tip 1, nakon oralnog dobivanja steviozida posljedica je njegovog učinka na fosfoenol piruvat karboksil kinazu (PEPCK), enzim koji regulira glukoneogenezu kontrolirajući sintezu glukoze u jetri. Vrlo je vjerojatno da steviozid usporava glukoneogenezu u jetri tako što suprimira ekspresiju PEPCK gena, što dovodi do smanjenja razine glukoze u krvi kod štakora s dijabetesom (Chen i sur., 2005).

Provedena je studija u kojoj je uspoređivan učinak listova *S. rebaudiana* i steviozida na glikemiju i glukoneogenezu u jetri kod zdravih štakora. Steviozid zajedno sa smjesom listova stevije, kod muških Wistar štakora u dozi od 5,5 mg/kg na dan tijekom 15 dana, nije imao učinaka, dok je doza od 20 mg/kg na dan smanjila koncentraciju glukoze u krvi, smanjenjem aktivnosti piruvat karboksilaze i PEPCK-a. Kako listovi stevije sadrže različite glikozide, još preostaje identificirati sastojak koji ima ovakvo djelovanje. Međutim, valja istaknuti, kako u ovoj studiji steviozid nema učinak na smanjenje razine glukoze u uvjetima s normalnom razinom glukoze u krvi (Ferreira i sur., 2006).

### 1.3.4. Učinak na sekreciju inzulina i inzulinsku osjetljivost

Izravni učinak steviozida i steviola na oslobađanje inzulina objašnjen je u *in vitro* istraživanju Jeppensen i suradnika. Steviol i steviozid potaknuli su izlučivanje inzulina iz inkubiranih otočića pankreasa kod razine glukoze u krvi od 16,7 mM, ovisno o apliciranoj dozi. Iako i steviol i steviozid posjeduju inzulotropni i antihyperglikemijski učinak, steviol ima jači učinak od steviozida. Ista je grupa istraživača provela test tolerancije glukoze na Goto-Kakizaki (GK) štakorima (nepretili životinjski model za tip 2 dijabetes) i na normalnim štakorima u prisutnosti i odsutnosti steviozida. Bolus injekcija steviozida (0,2 g/kg) zajedno s glukozom (2,0 g/kg) potiče sekreciju inzulina,

suprimira razinu glukagona u plazmi i smanjuje odgovor glukoze u krvi ispitan testom tolerancije glukoze kod anesteziranih štakora. Ovi rezultati potvrđuju pretpostavke o antihyperglikemijskom, insulinotropnom i glukagonostatskom djelovanju steviozida kod GK štakora s dijabetesom (Jeppesen i sur., 2000; Jeppesen i sur., 2002).

Uloga steviozida u povećanju inzulinske osjetljivosti bila je istraživana kod štakora koji su bili na dijeti koja je sadržavala 60 % fruktoze. Steviozid u dozi od 5,0 mg/kg, davan oralno, značajno je poboljšao inzulinsku osjetljivost čime dokazuje svoje blagotvorno djelovanje na metabolizam glukoze, stimulacijom sekrecije inzulina kao i povećanjem inzulinske osjetljivosti (Elliott i sur., 2002).

Ovi rezultati isto tako izazivaju i zabrinutost zbog moguće hipoglikemije koju bi mogla izazvati upotreba steviozida natašte (ili između obroka), kao što je slučaj kod sulfonilureje, koja stimulira otpuštanje inzulina. Iz toga proizlazi da steviozid iskazuje svoje blagotvorno djelovanje samo kod dijabetesa (odnosno kod povišene razine glukoze u krvi). Međutim, potrebna su daljnja istraživanja učinkovitosti, sigurnosti, djelovanja na glikemiju, te istraživanje posljedica dugotrajne konzumacije steviozida.

Broj kliničkih studija, koje bi procijenile učinak ekstrakta stevije i steviozida na razinu glukoze u krvi provedenih na ljudima, za sada je malo. U jednoj studiji, 12 dijabetičara s dijabetesom tipa 2 uzimalo je standardni obrok za testiranje u kojem je dodan 1 g steviozida, dok je kontrolna grupa uzimala 1 g škroba. Zabilježeno je smanjenje postprandijalne glukoze (razine glukoze u krvi nakon obroka) kod ispitivane skupine za 18 % (Gregersen i sur, 2004).

Istraživanja Hublera i suradnika (1994) pokazala su da je indeks koji pokazuje izlučivanje inzulina (glukoza – inzulin indeks) porastao za 40 % nakon upotrebe steviozida. Kako nije došlo do gubitaka glukoze urinom nakon uzimanja steviozida, smatra se da bi direktan učinak steviozida na periferno uklanjanje glukoze potaknuto inzulinom, mogao biti razlog smanjene razine postprandijalne glukoze. Ovo bi moglo uključiti i povećanu pohranu glikogena u jetri. Steviozid izrazito povećava sintezu glikogena u jetri nakon 24 sata kod štakora koji su dobivali 2,0 mM steviozida u vodi za piće, dok nakon doze od 1 mM, nakon 48 sati, nije opažen taj učinak. Ovako djelovanje steviozida bi povećalo uklanjanje glukoze iz plazme. Međutim, mehanizam ovog djelovanja nije objašnjen u ovoj studiji (Hubler, Bracht i Kelmer-Bracht, 1994).

Za razliku od navedenih saznanja, druga skupina znanstvenika je izvijestila da dugotrajna konzumacija steviozida od 250 mg, 3 puta na dan tijekom 3 mjeseca (što je količina slična onoj koja se upotrebljava kao zaslađivač), nema farmakološkog učinka kod dijabetičara s dijabetesom tip 1 i 2, niti kod pojedinaca s normalnim i niskim krvnim tlakom. Nije dokazano, dakle, ni sniženje glukoze u krvi, niti sniženje krvnog tlaka (Barriocanal i sur., 2008). Objašnjenje za to nije poznato, ali valja naglasiti da steviozid vjerojatno snižava glukozu u krvi i krvni tlak onda kada su ove vrijednosti jako povišene (Geuns i sur., 2007).

Drugi po količini sastojak lista stevije je rebaudiozid A, koji se od steviozida razlikuje po šećernom ostatku na C 13. To otvara mogućnost da bi i rebaudiozid A mogao imati hipoglikemijsko

djelovanje, slično onomu steviozida i ekstrakta stevije. Doista, rebaudiozid A izrazito stimulira oslobađanje inzulina ovisno o dozi iz otočića pankreasa miša kod visoke koncentracije glukoze (> 6,6 mM; Abudula i sur., 2004). Za ovo djelovanje potreban je izvanstanični kalcij. Međutim, u *in vivo* sudiji na GK štakorima, rebaudiozid A nije uspio izazvati sekreciju inzulina nakon dugotrajnog tretmana (Dyrskog i sur., 2005). Slično tome, dugotrajna upotreba rebaudiozida A tijekom 16 tjedana kod pacijenata s dijabetesom tipa 2, nije imala učinak na homeostazu glukoze, profil lipida niti na krvni tlak.

Uz steviozid, steviol i metabolit steviozida, izosteviol, utječu povoljno na profil lipida te potiču ekspresiju ključnih gena beta stanica, uključujući transkripcijske faktore za regulaciju inzulina, koji uspostavljaju homeostazu glukoze, povećavaju osjetljivost na inzulin, snižavaju trigliceride u plazmi i ukupnu težinu KKAy miševa s dijabetesom (Nordentoft i sur., 2008).

Kronični dijabetes tip 2 je normalno udružen i s hipertenzijom i dislipidemijom. Idealno farmakološko djelovanje kod pacijenata s dijabetesom tipa 2 stoga bi trebalo biti na sniženje krvnog tlaka te na koncentraciju lipida i glukoze u plazmi. S obzirom na to da su neke studije pokazale da steviozid smanjuje krvni tlak i glukozu u krvi, on stoga, ima visoki potencijal i za kliničku primjenu kod ovih pacijenata. Proteini soje snižavaju serumski kolesterol, lipoproteine niske gustoće (LDL) i trigliceride (TG). Ovi blagotvorni učinci na smanjenje LDL kolesterola su opaženi kod pacijenata s dijabetesom tipa 2 (Benford, DiNovi i Schlatter, 2006).

Studije na ljudskim i životinjskim stanicama pokazuju djelovanje steviozida, steviola i rebaudiozida A na glukozu u plazmi tako što usklađuju izlučivanje inzulina i njegovu osjetljivost, što rezultira uklanjanjem glukoze iz plazme. Oni isto tako smanjuju apsorpciju glukoze iz crijeva i glukogenezu u jetri, tako što mijenjaju aktivnost brojnih ključnih enzima koji su uključeni u sintezu glukoze, i na taj način smanjuju njen priljev u plazmu. Potrebno je istaknuti da djelovanje steviozida jako ovisi o razini glukoze u plazmi, jer su i studije provedene kod povišene razine glukoze. Prema tome, čini se da je potpuno sigurna za normalne i zdrave ljude. Međutim, mehanizam djelovanja još nije do kraja objašnjen. Upravo zato, veliku pažnju potrebno je još posvetiti potrazi za aktivnim spojevima *in vivo* i određivanju mehanizma djelovanja kod ljudi, prije nego što steviozid bude razvijen kao lijek u liječenju dijabetesa.

### 1.3.5. Antihipertenzivni učinak

Ranije provedene studije na ljudima i životinjama dokazale su da steviozid i ekstrakt stevije smanjuju krvni tlak induciranjem vazodilatacije, čime se smanjuje ukupni periferni otpor i poticanjem diureze i natrijureze što rezultira smanjenjem volumena plazme (Melis, 1995; Melis i Sainati, 1991; Melis i Sainati, 1991a).

Antihipertenzivno djelovanje sirovog ekstrakta stevije u dozi od 2,67 g suhog lista na dan, ovisi o vremenu, te zahtjeva dugotrajnu upotrebu. To je utvrđeno promatranjem normotenzivnih i hipertenzivnih štakora, kod kojih nije izmjerena značajna promjena krvnog tlaka prvih 20 dana, dok je hipotenzivni učinak bio primijećen nakon 40 - 60 dana od početka oralnog uzimanja (Melis,

1996). Slično tome, opažen je pad krvnog tlaka kod štakora, koji su oralno dobivali steviozid u dozi od 25 mg/kg na dan tijekom 6 tjedana (Jeppesen i sur., 2003). Dokazano je i da intravenozna infuzija steviozida reducira krvni tlak, bez odgode i kod normotenzivnih i hipertenzivnih štakora (Melis, 1992).

Grupa normotenzivnih Wistar-Kyoo štakora, zatim spontano hipertenzivnih, deoksikortikosteron osjetljivih i grupa štakora s renalnom hipertenzijom, dobivali su steviozid (čistoća nije navedena) u dozi od 50, 100, 200 ili 400 mg/kg na dan intraperitonealno u periodu 1 - 10 dana. Tretiranje steviozidom dovelo je do značajnog smanjenja krvnog tlaka kod svih vrsta štakora koje je trajalo svih 10 dana tretmana. Smanjenje krvnog tlaka opaženo je i kod starijih štakora s hipertenzijom koji su dobivali 0,1%-tni steviozid u vodi za piće. Isto tako, 0,1%-tni steviozid usporio je povećanje krvnog tlaka koji s godinama raste kod ove vrste štakora (Hsu i sur., 2002).

Učinak steviozida na kardiovaskularni sustav dokazan je i na ljudima.

U jednoj studiji steviozid je uzrokovao bradikardiju i hipotenziju (Humboldt i Boech, 1977). Slično tome, blagi hipotenzivni učinak javio se kod ljudi koji su dobivali čaj od ekstrakta stevije tijekom 30 dana (Boech i Humboldt, 1981). U ovim studijama pretpostavljen je i ionotropni učinak steviozida, s obzirom na to da je steviozid skratio vrijeme sistole. To bi moglo smanjiti udarni volumen, a time i arterijski tlak. Čini se da steviozid i ekstrakt stevije djeluju na smanjenje arterijskog tlaka.

Provedena je randomizirana dvostruko slijepa studija, na ženama i muškarcima s hipertenzijom u Kini u dobi od 28 do 75 godina: 60 pacijenata dobivalo je tijekom godine dana kapsule od 250 mg steviozida tri puta dnevno, što odgovara dozi od 750 mg na dan (ekvivalentno 12,5 mg/kg na dan, pretpostavljajući da je prosječna težina 60 kg), 46 pacijenata je dobivalo placebo. Sistolički i dijastolički krvni tlak se značajno smanjio nakon 3 mjeseca, kod muškaraca i žena koji su dobivali steviozid i taj je učinak trajao tijekom cijele godine. Biokemijski parametri u krvi, uključujući lipide i glukozu, su ostali nepromijenjeni. Tri pacijenta koji su dobivali steviozid i jedan koji je dobivao placebo, odustali su zbog nuspojava (mučnina, vrtoglavica, nadutost; Chan i sur., 2000).

Provedena je još jedna randomizirana dvostruko slijepa studija kod muškaraca i žena s hipertenzijom u Kini u dobi od 20 do 75 godina. Skupina od 85 pacijenata dobivala je kapsule od 500 mg steviozida tri puta na dan, što odgovara količini od 1500 mg steviozida na dan (ekvivalentno 25 mg/kg na dan ako je prosječna težina 60 kg), a 89 pacijenata su uzimali placebo. Troje pacijenata iz svake grupe je odustalo. Nije zabilježena promjena tjelesne težine niti biokemijskih parametara u krvi tijekom studije. U ispitivanoj grupi koja je uzimala steviozid izmjeren je pad krvnog tlaka već nakon prvog tjedna liječenja. Nakon dvije godine 6 od 52 pacijenta (11,5 %) iz grupe koja je uzimala steviozid je imala lijevu ventrikularnu hipertrofiju u usporedbi sa 17 od 50 pacijenata (34 %) koja je dobivala placebo ( $p < 0,001$ ). Osmam pacijenata iz svake grupe je prijavilo blage nuspojave (mučnina, vrtoglavica) zbog čega su dva pacijenta iz svake grupe odustala. Četiri pacijenta iz grupe koja je dobivala steviozid prijavila su tijekom prvog tjedna liječenja mučninu, nadutost, mišićnu osjetljivost, što je kasnije nestalo tako da su nastavili liječenje do kraja studije (Benford, DiNovi i Schlatter, 2006). Primijećeno je i to da je značajno

popravljen sveukupna kvaliteta života kod pacijenata tretiranih steviozidom u usporedbi s placebo. Ovi podaci dodatno potvrđuju ulogu steviozida u smanjenju krvnog tlaka kod ljudi (Chan i sur., 1998).

Antihipertenzivni učinak steviozida i ekstrakta stevije, djelomično bi mogao biti posljedica njihova djelovanja na volumen plazme. Intravenozna infuzija steviozida kod štakora inducira natrijurezu, diurezu i povećava renalni protok plazme, ali ne djeluje na glomerularnu filtraciju. Kako je ovo djelovanje bilo poništeno upotrebom indometacina, pretpostavlja se, da steviozid uzrokuje vazodilataciju aferentne i eferentne arteriole, dovodeći do povećanog renalnog protoka plazme, bez promjene razine glomerularne filtracije (Melis i Sainati, 1991a).

Nadalje, steviol inducira diurezu i natrijurezu kod štakora nakon intravenozne injekcije, bez značajne promjene u renalnom protoku plazme i razine glomerularne filtracije. Prema tome, i dugotrajna upotreba *per os* i akutna intravenozna aplikacija steviozida i steviola, kod štakora dovodi do diureze i natrijureze, što rezultira smanjenjem volumena plazme. Ove studije nisu razlučile systemske učinke od lokalnih direktno na samu funkciju bubrega.

Iz tog razloga, skupina istraživača je aplicirala steviozid direktno u renalnu arteriju štakora pri čemu je opažena diureza. Navedeno je, da je diureza posljedica smanjene reapsorpcije u proksimalnim tubulima, na što je ukazao klirens litija. Ovi rezultati su pokazali, da je glavna meta djelovanja steviozida upravo proksimalni tubul (Chatsudthipong i Jutabha, 2001).

Iz ovoga možemo zaključiti da je antihipertenzivni učinak steviozida, posljedica njegova učinka i na volumen plazme i na sistemski vaskularni otpor. Naime, steviozid inhibirajući influks kalcija dovodi do vazodilatacije i posljedično tome do smanjenja ukupnog perifernog otpora što rezultira smanjenjem arterijskog tlaka.

### 1.3.6. Ostali učinci

Listovi stevije i kalus kulture stevije imaju jaku antioksidativnu aktivnost i mogu biti bogati izvor antioksidansa (Tadhani M.B. i sur., 2007).

Određena istraživanja su pokazala antioksidativan učinak metanolnog ekstrakta dobivenog iz listova, kao i koncentriranog vodenog ekstrakta listova stevije. Učinak se odnosi na nazočnost flavonoida i drugih polifenolnih spojeva (Shukla i sur. 2011).

U studiji Abou-Arab i Abu-Salem iz 2010. godine rađenoj sa ekstraktima listova stevije i kalus kulture stevije, osim antioksidativnog učinka utvrđen i antimikrobni učinak. Stoga, autori smatraju da bi se listovi stevije i kalusi kultura stevije trebali i dalje istraživati kako bi se u budućnosti mogli koristiti u prehrambenoj i farmaceutskoj industriji.



#### 1.4. Tehnološki podaci

Suhi biljni materijal proizveden u Europi, Paragvaju i Japanu tradicionalno se proizvodi sušenjem vegetabilnih dijelova biljke u struji vrućeg zraka pri 70 °C tijekom 3 sata do sadržaja vlage 5 – 8%. Pod takvim uvjetima steviozidi se ne razgrađuju. Suhi materijal se može čuvati u tamnim i hermetičkim spremnicima i do 2 godine.

#### 1.5. Zakonodavstvo

Pravilnikom o dodacima prehrani (NN 46/11), biljka *Stevia rebaudiana* (Bertoni) navedena je na Listi dozvoljenih biljnih vrsta (Prilog III), iz čega proizlaze i mogućnosti njenog legalnog korištenja u smjesi ostalih dozvoljenih biljnih vrsta u oblicima kako propisuje Pravilnik (Ministarstvo zdravstva i socijalne skrbi, 2011).

Na razini Europe, Odlukom Europske komisije COMMISSION DECISION od 22. veljače 2000., člankom 1., odbija se stavljanje biljke *Stevia rebaudiana* (Bertoni) i njezinog suhog lišća na tržište kao hrana ili sastojak hrane, budući da ju uredba Europske komisije (EC) 258/97 svrstava u novu hranu (EC Commission, 2000; EC, 1997).

## 2. Karakterizacija opasnosti

### 2.1. Toksikološka evaluacija

Gotovo svi dostupni toksikološki podaci koje je sumirao SCF i JECFA odnose se na sirov ili pročišćeni ekstrakt ili čisti steviozid. Kako dosadašnjim studijama nije bilo moguće determinirati točni sastav i porijeklo materijala (biljke), one nisu relevantne za procjenu sigurnosti upotrebe lišća i suhog praha lišća. Jedina relevantna studija je ona u kojoj je opisano tretiranje štakora s 10 % suhog lišća *Steviae rebaudiana* (Bertoni) nepoznatog sastava u prehrani bogatoj ugljikohidratima u kojoj se ispitivao učinak na količinu glukoze u krvi. Iako nisu poznati detalji studije, rezultati ukazuju na kontinuirani značajni pad glikogena u jetri nakon 2 tjedna i značajan pad razine glukoze u krvi nakon 4 tjedna.

Nema podataka o alergijskim potencijalima lista i praha suhog lista.



### 3. Procjena izloženosti

#### 3.1. Unos

Suho lišće je oko 30 – 40 puta slađe od saharoze. Lišće nema široku upotrebu konzumacije u Europi, a od onih koji ga konzumiraju zabilježena je upotreba od oko 90 mg suhog praha po šalici čaja ili kave. Suhi prah lišća može se dodati u čokoladu (1%) i u džem (0,9%). Svježe lišće se može koristiti za zaslađivanje octa (6-9 g svježih listova na 1 L octa) ili kao dodatak salatama. U Europi konzumacija nije značajno raširena; sveukupni unos (praha i svježeg lista) prema podacima EC iz 1999. bio je 90 mg praška za zaslađivanje šalice kave ili čaja te 2,4 g svježeg lista izraženog kao suhi prah (što je ekvivalent 400 mg steviozida) Ovakva primjena sugerira prihvatljivi dnevni unos od 5 mg/dan, međutim ovaj broj nije utemeljen niti na jednom rezultatu toksikoloških istraživanja.

Smjesa mljevenog suhog lista, cvijeta i stabljike se u Paragvaju koristila u količini do 5 g dnevno u vidu čaja već 45 godina kao terapija za bolesnike koji boluju od dijabetesa, u svrhu snižavanja razine šećera u krvi, te u količino od 1 g dnevno, također u obliku čaja, za održavanje razine šećera.

Također, koriste se i male kapsule koje sadrže suhi list u svrhu fizičkog i psihičkog opuštanja. Nema podataka o unosu na ovaj način. (5)

Procijenjeni unos suhog lišća Stevije je mali. Iz znanstvene literature dnevni unos od 5-15 g sušenog lišća Stevije može se smatrati potpuno sigurnim, a preporučeni ADI iznosi do 250 mg sušenog lišća/kg tjelesne mase. (Geuns, J.M.C. 2007.)

U Japanu se *Stevia rebaudiana* (Bertoni) počela koristiti još 1970., porijeklom iz Paragvaja i Brazila, a od 1992. koristi se u konzerviranoj hrani, krastavcima, umacima, pekarskim proizvodima, sladoledu i voćnim sokovima. Procjenjuje se da je prosječni dnevni unos 4 mg/kg TM/dan/osobi.

Značajne količine *Stevia rebaudiana* (Bertoni) uzgajaju se i u Kini, većinom za izvoz, međutim lokalna upotreba je ograničena na upotrebu suhog lišća koji se koristi za pripremu čaja.

U Brazilu se suhi list, steriliziran s etilen oksidom, koristi za pripremu različitih aroma čajeva. U SAD-u se na tržištu koristi samo ekstrakt lista kao dodatak prehrani (njegova upotreba nije regulirana od strane FDA), ali isti je proizvod zabranjeno koristiti kao zaslađivač ili prehrambeni aditiv.

#### 3.2. Nutritivne implikacije

Svježe lišće koristi se u vrlo malim količinama te je stoga malo vjerojatno da bi moglo zamijeniti lisnato zeleno povrće u značajnijem opsegu. Prah suhog lišća može zamijeniti saharozu u pićima, džemovima i slatkišima sa svrhom smanjenja unosa kalorija. Nije poznato postoje li relevantne studije koje bi dale podatke o fiziološkim i farmakološkim učincima na dijabetes ili pretilost kod pojedinaca. Također, nisu poznate ni studije koje bi ukazivale na učinak praha suhog lista na uobičajenu prehranu sa stajališta makrosastojaka i mikrosastojaka.

#### 4. Karakterizacija rizika

Glikozidi stevije imaju brojne povoljne fiziološke učinke. Redovan prehrambeni unos rezultira poželjnijim razinama glukoze i kolesterola u krvi, glikozidi stevije pomažu u izlučivanju toksina poput radionuklida, povoljno utječu na regeneraciju stanice, proces koagulacije krvi, razvoj neoplazmi, funkciju krvnih žila. Također, povoljan je utjecaj na metabolizam žuči i upalne procese, imaju svojstvo diuretika; preveniraju ulceraciju u gastrointestinalnom traktu; imaju ulogu u liječenju hipertenzije i hiperglikemije; imaju antiviralnu aktivnost (naspram rotavirusa najčešćeg uzročnika proljeva u djece); povoljan utjecaj na glikemiju i bubrežnu funkciju. Imaju potencijala u terapiji dijareje.

Osim antivirusnog, stevija ima baktericidni i antikancerogeni učinak. Studije *in vitro* pokazale su i protuupalni učinak (inhibiraju pojavu upale zubnog mesa – gingivitisa), a pretpostavlja se da bi se kod zdravih ljudi steviozid mogao koristiti za jačanje imuniteta s obzirom na to da ima sposobnost aktivacije monocita.

Dodatno, biljka i steviozidi se mogu uključiti u dijetoterapiju i liječenje karcinoma te su moguća alternativa saharoze kod dijabetesa, gojaznosti i hipertenzije (Lemus-Mondaca i sur., 2012; Wölwer-Rieck, 2012).

Steviol je glavni metabolit pronađen u sistemske cirkulaciji nakon oralne primjene suhog lišća, koji se potom uglavnom izlučuje bubrežima u obliku glukuronida. Djelovanjem na izlučivanje inzulina i povećanjem inzulinske osjetljivosti, stevija je odličan izbor za dijabetičare i time postaje jasna njezina terapijska primjena. Valja naglasiti da steviozid snižava glukozu u krvi i krvni tlak, u slučajevima kada su ove vrijednosti, jako povišene. Dokazan je i učinak steviozida na sekreciju glukagona.

Steviozid i njegovi metaboliti djeluju povoljno na profil lipida i snižavaju trigliceride. Studije na ljudskim i životinjskim stanicama pokazuju da derivati steviozida uklanjaju glukozu iz plazme, regulacijom lučenja inzulina i njegove osjetljivosti. Neke studije na ljudima dokazuju i djelovanje ekstrakta stevije na smanjenje arterijskog tlaka, pri čemu je opaženo da se dugotrajna upotreba dobro podnosi, pa su znanstvenici zaključili da se može smatrati dodatnom alternativnom terapijom u liječenju hipertenzije. Antihipertenzivni učinak se tumači vazodilatacijom i diurezom, pri čemu se smanjuju periferni otpor i volumen plazme.

Stevija može izazvati alergijske reakcije kod ljudi osjetljivih na biljke iz porodice krizantema (*Asteraceae*). Također se ne preporuča njena konzumacija u trudnoći.

Međutim, trebalo bi napraviti i razmotriti studije koje bi uključile uzimanje steviozida kao i njegovog metabolita steviola, kroz duži vremenski period.

Osim toga, potrebna su daljnja istraživanja učinkovitosti, sigurnosti, djelovanja na glikemiju, te posljedica dugotrajne konzumacije steviozida.

## ZAKLJUČCI

Uzimajući u obzir:

- brojna znanstvena istraživanja vezana uz biljnu vrstu *Stevia rebaudiana* Bertoni, osušene listove te biljke, kao i ekstrakte stevije i najbolje istražene izolirane spojeve steviozid i rebaudiozid A
- informacije o statusu osušenih listova biljke *Stevia rebaudiana* Bertoni u pojedinim zemljama članicama EU
- postojeću zakonsku regulativu u EU po pitanju upotrebe i mogućnosti stavljanja na tržište biljke i osušenih listova *Stevia rebaudiana* Bertoni: Commission decision 2000/196/EC - Uredba o zabrani stavljanja na tržište biljke *Stevia rebaudiana* Bertoni kao nova hrana ili novi sastojak hrane

radna skupina donosi sljedeće zaključke:

- Slijedom svih ranije navedenih činjenica o složenom kemijskom sastavu biljke, kao i dostupnih znanstvenih spoznaja o djelovanju i mogućoj primjeni, još uvijek nema dovoljno čvrstih znanstvenih dokaza o sigurnoj uporabi osušenih listova biljke *Stevia rebaudiana* Bertoni kao monodroge i u prehrani.
- U Hrvatskoj biljna vrsta *Stevia rebaudiana* Bertoni trenutno se nalazi na listi dozvoljenih biljnih vrsta, Prilog III, Pravilnika o dodacima prehrani (NN 46/11), iz čega proizlaze i mogućnosti njenog legalnog korištenja u smjesi ostalih dozvoljenih biljnih vrsta u oblicima i na način kako propisuje Pravilnik. Navedeni proizvodi sa stevijom moraju biti označeni sukladno Pravilniku o označavanju, reklamiranju i prezentiranju hrane (NN 63/11, 79/11).

## LITERATURA (REFERENCE)

Abou-Arab E.A., Abu-Salem F.M. (2010) Evaluation of bioprotective compounds of *Stevia rebaudiana* leaves and cellus. African Journal of Food Science 4, 627-634.

Abudula, R., Jeppensen, P.B., Rolfsen, S.E.D., Xiao, J., Hermansen, K. (2004) Rebaudiozide A potently stimulates insulin secretion from isolated mouse islets: studies on the dose-glucose, and calcium-dependency. Metabolism 53, 1378-1380.

Barriocanal, L.A., Palacios, M., Benitez, G., Benitez, S., Jimenez T.J., Jimenez N. (2008) Apparent lack of pharmacological effect of steviol glycosides used as sweeteners in humans. A pilot study of repeated exposures in some normotensive and hypotensive individuals and in Type 1 and Type 2 diabetics. Regul. Toxicol. Pharmacol. 51, 37-41.

Benford, D.J., DiNovi, M., Schlatter, J. (2006) "Safety Evaluation of Certain Food Additives: Steviol Glycosides"

Boech, E.M., Humboldt, G. (1981) Efeitos cardiovasculares do extrato aquoso total da *Stevia rebaudiana* em indivíduos normais e do esteviosideo em ratos. Ciência e Cultura, 32, 208-210.

Chan, P., Tomlinson, B., Chen, Y.J., Liu, J.C., Hsieh, M.H., Cheng, J.T. (2000) A double-blind placebo-controlled study of the effectiveness and tolerability of oral stevioside in human hypertension, Br. J. Clin. Pharmacol. 50, 215-220.

Chan, P., Xu, D.Y., Liu, J.C., Chen, Y.J., Tomlinson, B., Huang, W.P. (1998) The effect of stevioside on blood pressure and plasma catecholamines in spontaneously hypertensive rats, Life Sci. 63, 1679-1684.

Chatsudthipong, V., Jutabha, P. (2001) Effect of steviol on para-aminohippurate transport by isolated perfused rabbit renal proximal tubule, J Pharmacol. Exp. Ther. 298, 1120-1127.

Chen, T.H., Chen, S.C., Chan, P., Chu, Y.L., Yang H.Y., Cheng, J.T. (2005) Mechanism of the hypoglycemic effect of stevioside, a glycoside of *Stevia rebaudiana*. Planta Med. 71, 108-113.

Curi, R., Alvarez, M., Bazotte, R.B., Botion, L.M., Godoy, J.L., Bracht, A. (1986) Effect of *Stevia rebaudiana* on glucose tolerance in normal adult humans. Braz J Med Biol Res 19, 771-774.

Dyrskog, S.E., Jeppesen, P.B., Colombo, M., Abudula, R., Hermansen, K. (2005) Preventive effects of a soy-based diet supplemented with stevioside on the development of the metabolic syndrome and type 2 diabetes in Zucker diabetic fatty rats. *Metabolism* 54, 1181–1188.

EC (1997) Regulation (EC) 258/97 of the European Parliament and of the Council of 27 January 1997 concerning novel food and novel food ingredients , O.J.No L 43, 14.2.1997, p1-7.

EC (2008) Regulation (EC) No 1333/2008 of the European Parliament and the Council od 16 December 2008 on food additives. O.J. L 354, 31.12.2008, p.16.

EC (2011) Commission Regulation (EU) No 1131/2011 of 11 November 2011, O.J. L295/205, 12.11.2011.

EC (2012) Regulation (EU) No 872/2012 of 1 October 2012. O.J. L 267/1, 02.10.2012.

EC Commission (2000) Commission decision of 22 February 2000, O.J. L61 08.03.2000, p.14.

EC Scientific Committee on food (1999) Opinion on *Stevia Rebaudiana* Bertoni plants and leaves (adopted on 17/6/99) [http://europa.eu.int/comm/dg24/health/sc/scf/index\\_en.html](http://europa.eu.int/comm/dg24/health/sc/scf/index_en.html).

EFSA (2010) Scientific opinion: Scientific opinion on the safety of steviol glycosides for the proposed uses as a food additive. *EFSA Journal* 2010;8(4):1537.

EFSA (2011) Statement of EFSA: Revised exposure assessment for steviol glycosides for the proposed uses as food additive. *EFSA Journal* 2011;9(1):1972.

Elliott, S.S., Keim, N.L., Stern, J.S., Teff, K., Havel, P.J. (2002) Fructose, weight gain, and the insulin resistance syndrome. *Am J Clin Nutr* 76, 911–922.

Ferreira, E.B., De Assis Rocha Neves, F., Duarte Da Costa, M.A., Alves Do Prado, W., De Araujo Funari Ferri L., Bazotte, R.B. (2006) Comparative effects of *Stevia rebaudiana* leaves and stevioside on glycaemia and hepatic gluconeogenesis. *Planta Med.* 72, 691–696.

Geuns, J. (2003) Stevioside. *Phytochemistry*, 64, 913-921.

Geuns, J.M.C. (1998) *Stevia rebaudiana* Bertoni plants and dried leaves as Novel Food. Final version 21.9.1998 with addendum.

Geuns, J.M.C., Buyse, J., Vankeirsbilck A., Temme, E.H.M. (2007) Metabolism of stevioside by healthy subjects. *Exp. Biol. Med.* 232, 164–173.

Geuns, J.M.C. (2007) *Stevia rebaudiana* Bertoni plants and dried leaves as Novel Food. Summary of the Application and Specifications of the EUSTAS Quality label. EUSTAS European Stevia Association, Barbastro, Spain.

Gregersen, S., Jeppesen, P.B., Holst J.J., Hermansen, K. (2004) Antihyperglycemic effects of stevioside in type 2 diabetic subjects. *Metabolism* 53, 73–76.

Hsu, Y.H., Liu, J.C., Kao, P.F., Lee, C.N., Chen, Y.J., Hsieh, M.H., Chan, P. (2002) Antihypertensive effect of stevioside in different strains of hypertensive rats. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi (Taipei)*. 65, 1-6.

Hubler, M.O., Bracht A., Kelmer-Bracht, A.M. (1994) Influence of stevioside on hepatic glycogen levels in fasted rats. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol* 84, 111–118.

Humboldt, G., Boech, E.M. (1977) Efeito do edulcorante natural (stevioside) e sinte' tico (sacarina) sobre o ritmo cardiaco em ratos, *Arq. Bras. Cardiol.* 30, 257–277.

Jeppesen, P.B., Gregersen, S., Alstrup, K.K., Hermansen, K. (2002) Stevioside induces antihyperglycaemic, insulinotropic and glucagonostatic effects in vivo: studies in the diabetic Goto-Kakizaki (GK) rats. *Phytomedicine* 9, 9–11.

Jeppesen, P.B., Gregersen, S., Poulsen C.R., Hermansen, K. (2000) Stevioside acts directly on pancreatic  $\beta$  cells to secrete insulin: actions independent of cyclic adenosine monophosphate and adenosine triphosphate-sensitive K<sup>+</sup>-channel activity. *Metabolism* 49, 208–214.

Jeppesen, P.B., Gregersen, S., Rolfsen, S.E., Jepsen, M., Colombo, M., Agger, A., Xiao, J., Kruhøffer, M., Orntoft, T., Hermansen, K. (2003) Antihyperglycemic and blood pressure-reducing effects of stevioside in the diabetic Goto-Kakizaki rat. *Metabolism*. 52, 372-8.

Kennelly, E.J. (2002) Sweet and non-sweet constituents of *Stevia rebaudiana*. In *Stevia, The Genus of Stevia, Medicinal and Aromatic Plants – Industrial Profiles*; Kinghorn, A.D., Ed., Taylor and Francis, London 2002. p 86-118.

Kinghorn, A.D. (1992) Food Ingredient Safety Review. *Stevia rebaudiana* leaves. 16.3.1992, Unpublished report submitted to the European Commission.

Lemus-Mondaca, R., Vega-Galvez, A., Zura-Bravo, L., Ah-Hen, K. (2012) *Stevia rebaudiana* Bertoni, source of a high-potency natural sweetener: A comprehensive review on the biochemical, nutritional and functional aspects. *Food Chemistry*, 132, 1121-1132.

Makapugay, H., Nanayakkara, N., Kinghorn, A. (1984) Improved high-performance liquid chromatographic separation of the *Stevia rebaudiana* sweet diterpene glycosides using linear gradient elution. *Journal of Chromatography*, 283, 390-395.

Melis, M.S., (1992) Stevioside effect on renal function of normal and hypertensive rats. *J Ethnopharmacol.* 36, 213-7.

Melis, M.S, Sainati, A.R. (1991) Effect of calcium and verapamil on renal function of rats during treatment with stevioside. *J Ethnopharmacol.* 33, 257-62.

Melis, M.S. (1995) Chronic administration of aqueous extract of *Stevia rebaudiana* in rats: renal effects. *J Ethnopharmacol.* 47, 129-34.

Melis, M.S., (1996) A crude extract of *Stevia rebaudiana* increases the renal plasma flow of normal and hypertensive rats. *Braz J Med Biol Res.* 29, 669-75.

Melis, M.S., Sainati, A.R. (1991a) Participation of prostaglandins in the effect of stevioside on rat renal function and arterial pressure. *Braz J Med Biol Res.* 24, 1269-76.

Ministarstvo poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvoja (2009) Pravilnik o izdavanju znanstvenog mišljenja i pružanja znanstvene i tehničke pomoći. *Narodne novine* br: 130/2009.

Ministarstvo zdravstva i socijalne skrbi (2011) Pravilnik o dodacima prehrani. *Narodne novine* br: 46/2011.

Nordentoft, I., Jeppesen, P.B., Hong, J., Abudula R., Hermansen, K. (2008) Isosteviol increases insulin sensitivity and changes gene expression of key insulin regulatory genes and transcription factors in islets of the diabetic KKAY mouse. *Diabetes Obes. Metab.* 10, (10) 939-949.

Ohta, M., Sasa, S. (2010) Characterization of Novel Steviol Glycosides from Leaves of *Stevia rebaudiana* Morita. *Journal of Applied Glycoscience*, 57, 199-209.

Shukla S, Mehta A., Mehta P. And Bajpai V.K. (2011) Antioxidant ability and total phenolic content of aqueous, leaf extract of *Stevia rebaudiana* Beart. *Experimetal and Toxicologic Pathology* (doi:10.101016/j.etp.2011.02.002.)

Susuki, H., Kasai, T., Sumihara, M. (1977) Effects of oral administration of stevioside on level of blood glucose and liver glycogen of intact rats. *Nippon Nogei Kagaku kaishi* 51, 171–173.

Tadhani M.B. at al. (2007) In vitro antioxidant acitivities of *Stevia rebaudiana* leavs and cellus. *Jornal of Food Composition and Analysis* 20, 323-329.

Toskulkao, C., Sutheerawatananon, M., Piyachaturawat, P. (1995) Inhibitory effect of steviol, a metabolite of stevioside, on glucose absorption in everted hamster intestine in vitro. *Toxicology Letters* 80, 153-159

WHO Food Additives Series (World Health Organization Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA)), [http://whqlibdoc.who.int/publications/2006/9241660546\\_eng.pdf](http://whqlibdoc.who.int/publications/2006/9241660546_eng.pdf), 1.10.2009.

Wölwer-Rieck, U. (2012) The Leaves of *Stevia rebaudiana* (Bertoni), Their Constituents and the Analyses Thereof: A Review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60, 886-895.