

Wirkungsorientierte Analytik von polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffen in geräucherten Fleischwaren

Frau Dr. med. vet. Kerstin Kuhn

Einleitung

Lebensmittel können mit einer Vielzahl unterschiedlicher chemischer Verbindungen kontaminiert sein. Mittels klassischer chemischer Analytik können gezielt ausgewählte Verbindungen in sehr niedrigen Konzentrationen nachgewiesen werden. Das komplexe Spektrum der möglichen Kontaminanten kann dadurch jedoch kaum vollständig und das Gefährdungspotential nicht immer ausreichend erfasst werden. Daher werden in der Umweltforschung seit etwa 25 Jahren integrierte biologisch-chemische Verfahren entwickelt und eingesetzt, die biologische Effekte von Stoffen der Substanzgemische messen (BRACK 2006). Diese werden als wirkungsorientierte Analyse (effect-directed analysis) oder als Toxizitätsidentifizierung und -auswertung (toxicity identification evaluation) bezeichnet. Neben dem Vorteil der Abschätzung des Summeneffektes einer komplex belasteten Probe beschreibt BRACK (2006) die Vorteile durch Senkung der Analysekosten, da hohe Fixkosten über Geräteanschaffungen (GC-MS / HPLC) reduziert werden können.

In der Untersuchung von Lebensmitteln werden in den letzten Jahren zunehmend wirkungsorientierte Ansätze im Bereich der Screeningverfahren getestet und eingesetzt. Im Bereich der Dioxinanalytik regelt die europäische Verordnung VO (EG) Nr. 1883/2006 die Analysemethoden für die amtliche Kontrolle. Sie nennt explizit den Einsatz von Screeningverfahren zur Auswahl der Proben mit einem signifikanten Gehalt an Dioxinen. In den Niederlanden und Belgien sind solche Verfahren seit einiger Zeit etabliert. Als Vorteil gelten der hohe Probendurchsatz und die dadurch bedingte Zeitersparnis. Ziel dieser Dissertationsarbeit war es, eine neue wirkungsorientierte Analytik von polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffen (PAKs) zu entwickeln, an das Untersuchungsgut Fleisch anzupassen und diese Analytik im praktischen Einsatz in der Lebensmittelkontrolle zu erproben.

PAKs stellen eine große, vielfältige Gruppe von chemischen Stoffen dar. Viele Vertreter gelten als mutagen, teratogen und kanzerogen. Ebenso werden Einflüsse auf die Fruchtbarkeit beschrieben (IARC 2005). Sie werden bei unvollständigen Verbrennungen von Fetten gebildet und kontaminieren Lebensmittel über die Umwelt (Ablagerung aus der Luft) und über Bearbeitungsprozesse wie Räuchern, Braten, Grillen und Rösten (GUILLEN u. SOPELANA 2003). Geschmolzenes Fett, das in die Glut tropft, erhöht die Kontaminationsmenge (WHO 2005). Die Auswahl des Räuchermaterials, Art der Raucherzeugung (extern oder intern), Verfügbarkeit von Sauerstoff und vor allem die eingesetzte Räuchertemperatur haben großen Einfluss auf die Menge von PAKs, die auf und in der Räucherware gebildet wird (SIMKO 2005).

Die wirkungsorientierte Analytik erfolgte mit dem *in vitro* CALUX Bioassay (chemical activated luciferase gene expression assay), der damit zum ersten Mal in der Analytik auf PAKs eingesetzt wurde. Dieser Bioassay zeigt die Aktivität aller Substanzen einer Probe, die mit dem Aryl Hydrocarbon Rezeptor (AhR) interagieren. Dieser vermittelt die meisten toxischen Effekte von u.a. Dioxinen, polychlorierten Biphenylen und PAKs (GUILLEN u. SOPELANA 2003). Aufgrund der Spezifität zum AhR ist es nicht möglich, die exakten Substanzen auszumachen, die ursächlich zur Aktivität einer Probe beitragen. Es wird vielmehr ein generelles biologisches (krebserregendes) Potential einer Probe aufgezeigt, das mit der Wirkung der enthaltenen PAKs korreliert. Dies wurde *in vitro* von MACHALA et

al. (2001) und in vivo von SHIMADA et al. (2002) gezeigt.

In kontaminierten Produkten wird stets eine Vielfalt verschiedener PAKs gebildet. Dennoch wurde viele Jahre lang nur die Leitsubstanz Benzo[a]pyren (B[a]P) auf nationaler und europäischer Ebene reglementiert und untersucht. In den letzten Jahren wuchs das Bewusstsein, dass die Bestimmung von B[a]P alleine für eine komplexe Risikobewertung einer Lebensmittelprobe nicht ausreicht, da festgestellt wurde, dass B[a]P nur mit 1 bis 20% zum gesamten kanzerogenen Potential einer Probe beiträgt (SIMKO 2002). Im Jahre 2005 empfahl die Europäische Kommission 15 ausgewählte PAKs, die vom Wissenschaftlichen Ausschuss „Lebensmittel“ als karzinogen eingestuft wurden, weiter zu untersuchen. In der Folge wurde von der europäischen Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA) aufgrund einer entsprechenden Bewertung durch den Gemeinsamen FAO/WHO-Sachverständigenausschuss für Lebensmittelzusatzstoffe (JECFA) noch ein weiteres PAK der Liste hinzugefügt (WHO 2005). Auf diese, 15+1 priority PAKs genannte Liste¹ fokussiert sich zur Zeit die europäische Forschung, obwohl in einem europaweiten Ringversuch 2007 festgestellt wurde, dass noch nicht alle Laboratorien diese neuen Anforderungen umsetzen können und nur ein Viertel aller beteiligten Labore in der Lage waren, zufrieden stellend alle 16 PAKs zu bestimmen (SIMON et al. 2008).

Um die Ergebnisse der wirkungsorientierten Analytik von geräucherten Fleischproben mit denen einer herkömmlichen chemischen Analytik vergleichen zu können, wurden in der vorliegenden Arbeit alle Fleischproben parallel zum Bioassay mittels instrumenteller Analytik (GC-MS) untersucht. Dabei wurde auf insgesamt 31 PAKs untersucht, einschließlich der 15+1 EFSA-priority PAKs. Als Untersuchungsgut kamen zum einen Fleischproben (Bauchspeck des Schweins) zum Einsatz, die selbst unter definierten Bedingungen geräuchert wurden. Zum anderen wurden entsprechende Produkte im Groß- und auf dem Wochenmarkt eingekauft und analysiert.

Nach der Adaptation des Bioassays an die Untersuchung auf PAK erfolgte der praktische Einsatz in der Untersuchung der geräucherten Bauchspeckproben. Dabei wurde der Einfluss unterschiedlicher Räucherbedingungen (Räuchertemperatur und Räucherdauer) auf die Entstehung kanzerogener PAKs untersucht und bestimmt, wie sensibel die wirkungsorientierte Analytik mittels Bioassay Änderungen der Räucherbedingungen und damit der Kontaminationsmenge anzeigt.

¹ Benzo[c]fluorene, Benz[a]anthracene, Cyclopenta[cd]pyrene, Chrysene, 5-Methylchrysene, Benzo[b]fluoranthene, Benzo[k]fluoranthene, Benzo[j]fluoranthene, Benzo[a]pyrene, Indeno[1,2,3-cd]pyrene, Dibenz[a,h]anthracene, Benzo[ghi]perylene, Dibenzo[a,e]pyrene, Dibenzo[a,h]pyrene, Dibenzo[a,i]pyrene, Dibenzo[a,l]pyrene