

Kanzerogene PAK in geräucherten Fleischerzeugnissen und Rauchkondensaten Carcinogenic PAH in smoked meat products and liquid smokes

W. JIRA

Zusammenfassung

Innerhalb der Gruppe von ca. 250 Polycyclischen Aromatischen Kohlenwasserstoffen (PAK) werden 16 Verbindungen von der amerikanischen Umweltbehörde als besonders gesundheits- und umweltgefährdend angesehen, 6 davon werden als kanzerogen eingestuft. Im Gegensatz zu Benzo[a]pyren existiert über die Gehalte der anderen kanzerogenen PAK in geräucherten Fleischerzeugnissen bislang kein zuverlässiges Datenmaterial. Daher wurde an der BFEL Kulmbach eine GC/MS-Methode entwickelt, mit der die Gehalte an kanzerogenen PAK in geräucherten Fleischerzeugnissen und Rauchkondensaten untersucht wurden. Die bislang durchgeführten Untersuchungen zeigen, dass das Benzo[a]pyren sowohl bei Fleischerzeugnissen mit einem Benzo[a]pyren-Gehalt von mehr als 0,15 µg/kg als auch bei Rauchkondensaten den PAK-TEQ klar dominiert. Daher scheint die alleinige Bestimmung von Benzo[a]pyren in geräucherten Fleischerzeugnissen ausreichend zu sein, da sich der PAK-TEQ relativ zuverlässig aus dem Benzo[a]pyren-Gehalt abschätzen lässt.

Summary

Within the group of about 250 polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) 16 PAH compounds are considered as especially hazardous to health and environment by the U.S. Environmental Protection Agency (EPA), 6 of these compounds have carcinogenic potential. In contrast to benzo[a]pyrene only very little is known about the contents of the other carcinogenic PAH in smoked meat products. Therefore at the BFEL Kulmbach a GC/MS method was developed, which was applied for the determination of carcinogenic PAH in smoked meat products and liquid smokes. These investigations show that benzo[a]pyrene both in meat products with a benzo[a]pyrene content of more than 0.15 µg/kg and in liquid smokes dominates the PAH-TEQ. According to the present state of knowledge the sole determination of benzo[a]pyrene in smoked meat products seems to be sufficient because a reliable estimation of the PAH-TEQ is possible.

Schlüsselwörter	PAK – geräucherte Fleischerzeugnisse – Rauchkondensat – Kanzerogenität – Toxizitätsäquivalente
Key Words	PAH – smoked meat products – liquid smokes – carcinogenicity – toxic equivalents

Was sind PAK?

Polycyclische Aromatische Kohlenwasserstoffe (PAK) sind eine Gruppe von organischen Verbindungen, die 2 oder mehr kondensierte aromatische Kohlenstoffringe enthalten. Sie werden hauptsächlich bei pyrolytischen Prozessen, insbesondere bei der unvollständigen Verbrennung organischen Materials und daher auch beim Räuchern gebildet. Die

Gruppe der PAK umfasst bis zu 250 verschiedene Substanzen, von denen 16 Verbindungen von der amerikanischen Umweltbehörde (US-EPA) als besonders gesundheits- und umweltgefährdend angesehen werden. Von diesen 16 EPA-PAK werden 6 Verbindungen von der International Agency for Research on Cancer (IARC) als Stoffe mit hinreichendem Beweis für die kanzerogene Wirkung im Tierversuch klassifiziert. Die bekann-

teste kanzerogene PAK-Verbindung ist das Benzo[a]pyren, welches bislang als Leitsubstanz verwendet wird. Als gemeinsames Strukturmerkmal weisen alle kanzerogenen PAK eine Einbuchtung, eine sogenannte Bay-Region, auf (siehe Abb. 1). Das Vorhandensein dieser Bay-Region führt dazu, dass die PAK-Verbindung (z.B. Benzo[a]pyren) in mehreren Schritten enzymatisch oxidiert werden kann. Es bildet sich letztendlich ein Diol-epoxid, welches ein starkes Mutagen darstellt, weil es in der Lage ist, DNA-Addukte zu bilden.

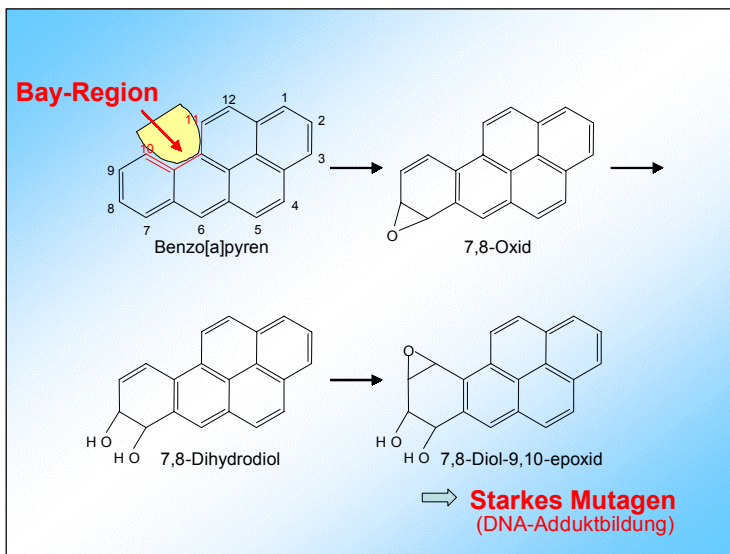


Abb. 1: Die Kanzerogenität der PAK am Beispiel des Benzo[a]pyren

Warum sind PAK nur in geräucherten Fleischerzeugnissen nachweisbar?

Gras als Futtermittel für Rinder beispielsweise ist je nach Standort unterschiedlich stark mit PAK kontaminiert. Verantwortlich dafür sind insbesondere die Abgase von Dieselfahrzeugen. Trotz dieser teilweise nicht unerheblichen Mengen an PAK, die vom tierischen Organismus aufgenommen werden, können in rohem Fleisch dennoch keine PAK nachgewiesen werden. Dies liegt zum einen an der raschen Metabolisierung der PAK, zum anderen werden die PAK (v. a. Benzo[a]pyren) vom Darm sehr schlecht resorbiert. Dies konnte auch durch Verfütterung von ^{14}C -markierten PAK nachgewiesen werden [1]. Als Eintragsquellen für PAK in Fleischerzeugnis-

se sind die Räucherung (frisch erzeugter Rauch bzw. Flüssigrauch) und die Zugabe von Gewürzen (insbesondere bei unsachgemäßer Trocknung) zu nennen.

Kanzerogene PAK in geräucherten Fleischerzeugnissen

In Kulmbach wurden in den letzten 10 Jahren ca. 250 geräucherte Fleischerzeugnisse und etwa 200 Rauchkondensate hinsichtlich ihres Gehaltes an Benzo[a]pyren untersucht. Dabei konnten jeweils abnehmende Gehalte festgestellt werden [2]. Im Gegensatz zu Benzo[a]pyren existiert über die Gehalte der anderen kanzerogenen PAK in geräucherten Fleischerzeugnissen und Rauchkondensaten bislang kein zuverlässiges Datenmaterial. Im Hinblick auf Erwägungen der EU, Höchstgehalte für diese kanzerogenen PAK in Lebensmitteln einzuführen, ist es jedoch von besonderer Wichtigkeit, fundierte Kenntnisse über deren Gehalte insbesondere in geräucherten Fleischerzeugnissen zu besitzen, da diese Lebensmittelgruppe mit einem durchschnittlichen Verzehr des Bundesbürgers von ca. 24 kg pro Jahr den größten Anteil der geräucherten Lebensmittel darstellt. Da die für die Analytik von Benzo[a]pyren etablierte HPLC/Fluoreszenz-Methode nicht geeignet ist, gleichzeitig den Gehalt aller toxikologisch relevanten PAK zu bestimmen, wurde eine GC/MS-Methode entwickelt [3], mit der die Gehalte der toxikologisch relevanten PAK in geräucherten Fleischerzeugnissen und Rauchkondensaten untersucht wurden. Die Vorteile dieser Methode beruhen zum einen auf der sehr guten Trennung der einzelnen PAK durch Einsatz der Kapillargaschromatographie. Ferner ermöglicht die massenspektrometrische Detektion eine hohe Selektivität und den Einsatz von isotopenmarkierten Standardverbindungen und damit eine sehr exakte Quantifizierung. Zudem erfolgt die Extraktion mit Hilfe der beschleunigten Lösemittelextraktion (Accelerated Solvent Extraction), die eine moderne und effiziente Extraktionsmethode mit hohem Automatisierungsgrad darstellt. Auch kann auf eine aufwändige Fettverseifung verzichtet werden. Die 16 von der amerikanischen Umweltbehörde

ausgewählten PAK unterscheiden sich hinsichtlich ihrer Gehalte und ihrer Kanzerogenität. Daher wurde, um das kanzerogene Potential der PAK vergleichbar zu machen, vorgeschlagen, den Gehalt an toxikologisch relevanten PAK in einer Leit-substanz wie z.B. Benzo[a]pyren unter Verwendung von Toxizitätsäquivalent-Faktoren (TEF) zusammenzuführen [4]. Diese Größe drückt summarisch die relative

ve Toxizität von 12 unterschiedlichen PAK im Vergleich zu Benzo[a]pyren aus und wird als Toxizitäts-Äquivalent (TEQ) bezeichnet. Dieser errechnet sich aus der jeweiligen Konzentration eines Kongeners, multipliziert mit einem Toxizitätsäquivalent-Faktor (TEF), der die relative Toxizität dieses Kongeners im Vergleich zu Benzo[a]pyren angibt, dem ein TEF von 1 zugewiesen wird (siehe Abb. 2).

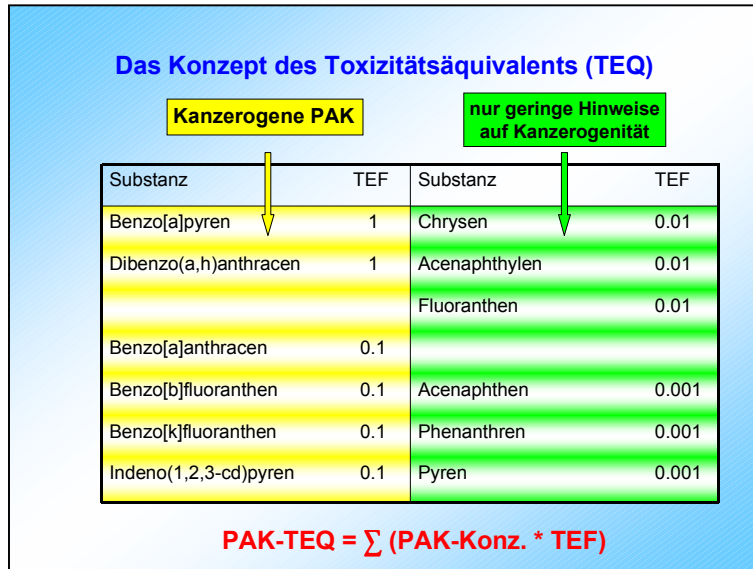


Abb. 2: Das PAK-Toxizitätsäquivalent-Konzept [4]

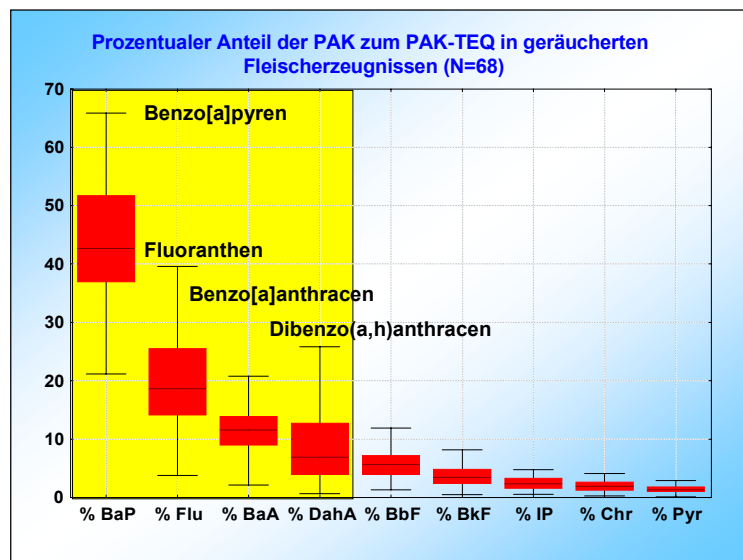


Abb. 3: Prozentualer Anteil der PAK zum PAK-TEQ in geräucherten Fleischerzeugnissen (N=68). (BbF = Benzo[b]fluoranthen, BkF= Benzo[k]fluoranthen, IP = Indeno(1,2,3-cd)pyren, Chr = Chrysen, Pyr = Pyren)

Wie Benzo[a]pyren wird auch Dibenz(a,h)anthracen ein TEF von 1 zugeordnet. Diese beiden PAK sind in der Klassifizierung der IARC als „wahrscheinlich auch für den Menschen krebserregend“ eingestuft. Dies gilt auch für Benzo[a]anthracen, dem ebenso wie den als „möglicherweise für den Menschen krebserregend“ eingestuften PAK Benzo(b)fluoranthren, Benzo(k)fluoranthren und Indeno(1,2,3-cd)pyren jeweils ein TEF von 0,1 zugewiesen wird. Die anderen in Abbildung 2 aufgeführten Verbindungen, für die keine Hinweise auf Kanzerogenität vorliegen, haben nur geringe TEF-Werte (0,01 bzw. 0,001).

Mit Hilfe der von uns entwickelten GC/MS-Methode wurden bislang 68 geräucherte Fleischerzeugnisse hinsichtlich ihrer Gehalte an kanzerogenen PAK untersucht. Bei Anwendung des beschriebenen TEQ-Modells ergaben sich folgende prozentuale Beiträge der einzelnen PAK zum PAK-TEQ (siehe Abb. 3):

Den größten Beitrag liefert das Benzo[a]pyren (Median: 43 %). Daneben liefern noch Fluoranthren und Benzo[a]anthracen einen Beitrag, der im Median über 10 % liegt. Bei Dibenz(a,h)anthracen liegt der Median schon deutlich unter 10 %, jedoch liegt das oberste Quartil noch deutlich über 10 %. Das heißt also, bei einem Viertel der Proben liefert das Dibenz(a,h)anthracen einen Beitrag von mehr als 10% zum PAK-TEQ. Alle anderen PAK-Verbindungen liefern demnach nur einen zu vernachlässigenden Beitrag zum PAK-TEQ. Mit der Bestimmung der 4 PAK Benzo[a]pyren, Fluoranthren, Benzo[a]anthracen, Dibenz(a,h)anthracen können etwa 90 % des PAK-TEQ erfasst werden. Daher ist es keinesfalls notwendig, alle in Abbildung 2 aufgeführten PAK in geräucherten Fleischerzeugnissen zu bestimmen, sondern die Analytik kann auf maximal 4 PAK-Verbindungen beschränkt werden.

Ein differenzierteres Bild ergibt sich, wenn man das Probenkollektiv (N=68) in folgende 3 Gruppen mit etwa gleichen Probenzahlen aufteilt:

- 1) Proben mit niedriger Benzo[a]pyren-Konzentration ($< 0,05 \mu\text{g}/\text{kg}$)
- 2) Proben mit mittlerer Benzo[a]pyren-Konzentration ($0,05\text{--}0,15 \mu\text{g}/\text{kg}$)
- 3) Proben mit hoher Benzo[a]pyren-Konzentration ($> 0,15 \mu\text{g}/\text{kg}$).

Abbildung 4 zeigt die prozentualen Beiträge der 4 wichtigsten PAK zum PAK-TEQ in den drei oben genannten Gruppen. Es ist klar zu sehen, dass der Anteil von Benzo[a]pyren am PAK-TEQ mit steigendem Benzo[a]pyren-Gehalt deutlich zunimmt. Während in der Gruppe mit niedriger Benzo[a]pyren-Konzentration der Median bei 40 % liegt, beträgt er in der mit hoher Benzo[a]pyren-Konzentration weit über 50 %. Das heißt also, dass insbesondere bei den für den gesundheitlichen Verbraucherschutz relevanten Produkten mit höheren Benzo[a]pyren-Konzentrationen das Benzo[a]pyren den PAK-TEQ eindeutig dominiert. Es ist demnach durchaus als Leitsubstanz anzusehen und eine alleinige Bestimmung erscheint ausreichend. Dagegen nehmen mit steigendem Benzo[a]pyren-Gehalt die prozentualen Anteile von Fluoranthren und Dibenz(a,h)anthracen am PAK-TEQ deutlich ab. Der prozentuale Anteil von Benzo[a]anthracen bleibt nahezu unverändert.

Kanzerogene PAK in Rauchkondensaten

Bislang wurden mit Hilfe der von uns entwickelten GC/MS-Methode 12 Rauchkondensate hinsichtlich ihrer Gehalte an kanzerogenen PAK untersucht. Der prozentuale Beitrag der einzelnen PAK zum PAK-TEQ ist in Abbildung 5 dargestellt. Diese ersten Untersuchungsergebnisse zeigen, dass das Benzo[a]pyren in Rauchkondensaten den PAK-TEQ noch deutlicher zu dominieren scheint (im Median 66 %) als dies bei den geräucherten Fleischerzeugnissen der Fall ist. Daneben leistet eigentlich nur noch das Benzo[a]anthracen einen relevanten Beitrag (im Median 11 %) zum PAK-TEQ. Der Beitrag aller anderen PAK liegt im Median

deutlich unter 10 % und kann daher vernachlässigt werden.

Benzo[a]pyren und Benzo[a]anthracen sind nach unseren bisherigen ersten Untersuchungsergebnissen die beiden toxiologisch relevantesten PAK in Rauchkondensaten. Im Laufe der letzten 10 Jahre wurden mit Hilfe der HPLC/Fluoreszenz-Methode insgesamt 64 Rauchkondensate auf den Gehalt an diesen beiden PAK-Verbindungen untersucht. Betrachtet man das **mengenmäßi-**

ge Verhältnis dieser beiden Substanzen zueinander, so stellt man fest, dass das Benzo[a]anthracen/Benzo[a]pyren-Verhältnis bei etwa der Hälfte der Proben im Bereich von etwa 1:1 bis etwa 5:1 liegt. Im Median beträgt das Verhältnis 2:1. Dieses Verhältnis spiegelt sich auch in der neuen EU-Verordnung zur Anwendung von Raucharomen [5] wider, in der als PAK-Höchstgehalte in Rauchkondensaten für Benzo[a]pyren 10 µg/kg und für Benzo[a]anthracen 20 µg/kg festgeschrieben sind.

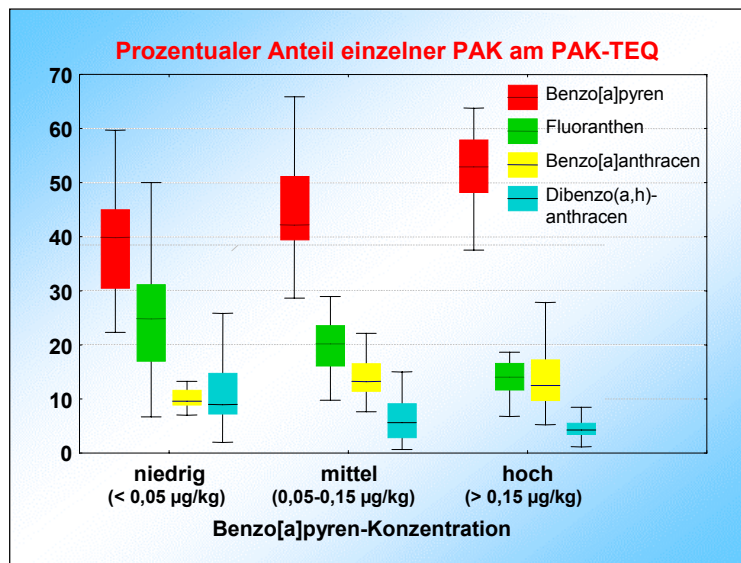


Abb. 4: Prozentuale Anteile der 4 relevantesten PAK zum PAK-TEQ in geräucherten Fleischerzeugnissen in Abhängigkeit von der Benzo[a]pyren-Konzentration

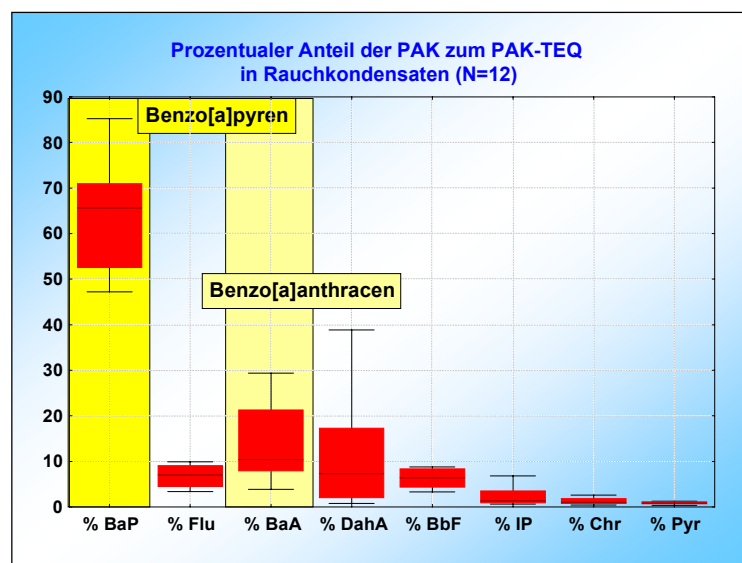


Abb. 5: Prozentualer Anteil der PAK zum PAK-TEQ in Rauchkondensaten (N = 12)

Diese neue EU-Verordnung soll eine Harmonisierung der momentan in den einzelnen EU-Mitgliedsstaaten sehr uneinheitlichen Regelungen hinsichtlich der Zulassung von Rauchkondensaten herbeiführen. Nach der neuen EU-Verordnung müssen Rauchkondensate einer Sicherheitsbewertung unterzogen werden. Diese neuen Bestimmungen müssen von den EU-Mitgliedsstaaten bis spätestens Anfang 2005 angewendet werden.

Zusammenfassung und Ausblick

Mit Hilfe der von uns entwickelten GC/MS-Methode wurden bislang 68 geräucherte Fleischerzeugnisse hinsichtlich ihres Gehaltes an kanzerogenen PAK untersucht. Dabei zeigte sich, dass mit der Bestimmung von 4 PAK-Verbindungen (Benzo[a]pyren, Fluoranthren, Benzo[a]anthracen und Dibenzo(a,h)anthracen) etwa 90 % des PAK-TEQ erfasst werden. Die anderen PAK liefern einen zu vernachlässigenden Beitrag zum PAK-TEQ. Insbesondere bei den für den gesundheitlichen Verbraucherschutz relevanten Produkten mit höheren Benzo[a]pyren-Konzentrationen ($>0,15 \mu\text{g}/\text{kg}$) dominiert das Benzo[a]pyren eindeutig den PAK-TEQ. Es ist demnach durchaus als Leitsubstanz anzusehen und eine alleinige Bestimmung erscheint absolut ausreichend. Dies bedeutet einen wesentlich geringeren Zeitaufwand für die Analytik und ist folglich

auch wesentlich kostengünstiger. Nach unserem bisherigen Kenntnisstand dominiert auch bei den Rauchkondensaten das Benzo[a]pyren den PAK-TEQ. Daneben liefert nur noch das Benzo[a]anthracen einen relevanten Beitrag zum PAK-TEQ. Künftig sollte geklärt werden, welchen Einfluss die Räucherbedingungen auf die Gehalte der kanzerogenen PAK haben und welchen Beitrag Gewürze zum PAK-TEQ leisten.

Literatur

- [1] GROVA N., FEIDT C., LAURENT C., RYCHEN G. (2002): [^{14}C] Milk, urine and faeces excretion kinetics in lactating goats after an oral administration of [^{14}C]polycyclic aromatic hydrocarbons. *International Dairy Journal* 12, 1025-1031.
- [2] JIRA W. (2003): Polycyclische aromatische Kohlenwasserstoffe in geräucherten Fleischerzeugnissen und Rauchkondensaten. *Fleischwirtschaft* 83(3), 160-163.
- [3] JIRA W. (2004): A GC/MS method for the determination of carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in smoked meat products and liquid smokes. *Eur Food Res Technol* 218, 208-212.
- [4] TRAAG W., HOOGENBOOM L., WEG G., BAARS A., SCHOUTEN T. (2001): Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in animal feeds, animal fats, vegetable oils/fats, fatty acids.