

Zum Problem der toxikologischen Prüfung strahlenkonservierter Lebensmittel

Von J. F. Diehl*)

Seit über die lebensmittelrechtliche Situation der Strahlenkonservierung zuletzt zusammenfassend berichtet wurde¹⁾, sind in verschiedenen Staaten weitere Zulassungen für bestrahlte Lebensmittel erteilt worden: 1968 wurde in Israel die Bestrahlung von Zwiebeln zur Verhinderung des Auskeimens genehmigt, 1969 in Kanada die Weizenbestrahlung zur Insektenvertilgung und in den Niederlanden die Bestrahlung von Zuchtchampignons zur Verlängerung der Haltbarkeit. Es folgten 1970 in den Niederlanden und in Frankreich Genehmigungen für die Bestrahlung von Kartoffeln zur Verhinderung des Auskeimens. Die Kommission der Europäischen Gemeinschaften bereitet Richtlinien für die Zulassung der Kartoffelbestrahlung in den EWG-Staaten vor.

Unter diesen Umständen ist die Klärung der Voraussetzungen für die gesetzliche Einführung der Strahlenbehandlung in der Bundesrepublik Deutschland zu einem dringenden Anliegen geworden. Gemäß § 4c LMG ist die Behandlung von Lebensmitteln mit ionisierenden Strahlen nur dann möglich, wenn das Verfahren ausdrücklich zugelassen wurde. Entsprechende Zulassungen können erteilt werden, wenn dies mit dem Schutz des Verbrauchers vereinbar ist. In ihrer Mitteilung IV hat die Fremdstoffkommission Kriterien zur Beurteilung der gesundheitlichen Unbedenklichkeit bestrahlter Lebensmittel veröffentlicht, aus denen hervorgeht, welche Untersuchungen durchgeführt werden sollten, um dieser Forderung gerecht zu werden²⁾.

Wichtigster Bestandteil solcher Untersuchungen ist der Langzeittierfütterungsversuch, dessen Durchführung und Interpretation jedoch gerade bei der Prüfung bestrahlter Lebensmittel auf große Schwierigkeiten stößt. Der sonst übliche 100fache Sicherheitsfaktor ist hier nicht anwendbar. Während sich bei der Prüfung chemischer Zusatzstoffe durch Verfütterung entsprechend hoher Mengen feststellen läßt, von welcher Dosis an schädliche Wirkungen auftreten, ist dies bei der Prüfung bestrahlter Lebensmittel nicht möglich. Ein Versuchstier verträgt nur eine bestimmte Menge Kartoffeln oder Zwiebeln in seiner Nahrung — gleichgültig ob bestrahlt oder unbestrahlt. Versuche, über diese Menge hinauszugehen, führen nicht zu einer erhöhten Sicherheit, sondern im Gegenteil zu fragwürdigen Resultaten. So wurden z. B. bei dem Versuch festzustellen, ob bestrahlte Rosinen³⁾ und bestrahlte Zwiebeln⁴⁾ gesundheitsschädliche Wirkungen haben, Diäten verfüttert, die zu 35 % aus Rosinen bzw. zu 25 % aus Zwiebeln bestanden. Diese Diäten bekamen den Tieren schlecht — gleichgültig ob das Futter bestrahlt war oder nicht. Da man letztlich zwei Gruppen von kranken Tieren miteinander vergleicht, ist das Ergebnis hinsichtlich der gesundheitlichen Unbedenklichkeit der Bestrahlung bei diesen Versuchen sehr fragwürdig.

Andererseits kommt man aber auch nicht durch Erhöhung der Strahlendosis zu klareren Ergebnissen. Als physikalischer Vorgang ist die Bestrahlung in dieser Hinsicht mit dem Erhitzen vergleichbar: Ob beim

Brotbacken schädliche Stoffe entstehen, kann man nicht dadurch feststellen, daß man den Teig auf 1000° erhitzt und das so erhaltene „Brot“ im Tierfütterungsversuch prüft.

Wenn man wüßte, welche eventuell toxischen Produkte bei der Bestrahlung von Lebensmitteln entstehen, so könnte man diese Stoffe anreichern, um so zu einem „positive effect level“ im Tierfütterungstest zu kommen. Es fehlt daher nicht an Versuchen, durch chemische Analyse Hinweise auf potentiell toxische strahleninduzierte Stoffe zu erhalten. Auch in unserem Arbeitskreis wird dieser Weg beschritten⁵⁾. Wenn auch bisher in bestrahlten Lebensmitteln keine Verbindungen festgestellt wurden, von denen mit Sicherheit gesagt werden kann, daß sie nicht auch durch Erhitzen oder sonstige Behandlungsmethoden entstehen, so müssen diese chemischen Untersuchungen doch fortgesetzt werden, um möglichst solide Grundlagen für die gesundheitliche Beurteilung bestrahlter Lebensmittel zu schaffen. Gewarnt werden muß allerdings vor der gelegentlich erhobenen Forderung, daß alle durch die Bestrahlung gebildeten Substanzen identifiziert werden müßten, ehe man an eine Zulassung bestrahlter Lebensmittel denken dürfe. So umfassend werden unsere Kenntnisse kaum jemals sein können — so wenig wie wir in absehbarer Zeit in der Lage sein werden mit Sicherheit zu sagen, welche Stoffe beim Erhitzen der einzelnen Lebensmittel entstehen. Die Reaktionsprodukte sind ja nicht nur von Lebensmittel zu Lebensmittel verschieden, sondern werden bei einem bestimmten Lebensmittel, wie z. B. Kartoffeln, durch zahlreiche Faktoren wie Sorte, Jahreszeit, Anbau- und Lagerungsbedingungen usw. beeinflußt.

Zur Beurteilung bestrahlter Lebensmittel sind auch verschiedene mikrobiologische Systeme und Zellkulturen herangezogen worden, sowie der klinische Test am Menschen⁶⁾. Insgesamt ist der Umfang der Untersuchungen, die der Klärung dieses Problems galten, bereits sehr beachtlich. Eine 1966 erschienene Bibliographie führte bereits über 300 Titel auf⁷⁾. Von manchen Befürwortern der Lebensmittelbestrahlung wird mit Ungeduld darauf hingewiesen, daß die gesundheitliche Unbedenklichkeit der Lebensmittelbestrahlung experimentell bereits viel besser abgesichert wurde als diejenige anderer, ständig praktizierter Behandlungsmethoden, wie des Besprühens mit chemischen Keimhemmungsmitteln oder der Mikrowellenerhitzung. Die experimentellen Ergebnisse rechtfertigen sogar die Behauptung, daß die Bestrahlung, wenn nicht extrem hohe Strahlendosen angewendet werden, gesundheitlich weniger bedenklich ist als z. B. das Räuchern, die Verwendung von Schwefeldioxid, das Begasen mit Äthylenoxid, der Zusatz von Nitraten und Nitraten und gewisse andere konventionelle Methoden. Andererseits muß berücksichtigt werden, daß die psychologischen Widerstände gegen die Strahlenkonservierung, gegen alles was irgendwie mit Strahlen und Radioaktivität zu tun hat, sehr groß sind. Diese Widerstände können nur durch gründliche Information

*) Vortrag gehalten auf der Jahrestagung der GDCh-Fachgruppe „Lebensmittelchemie und gerichtliche Chemie“ in Würzburg, 15. September 1970.

überwunden werden — und diese Information muß sich auf Versuche stützen können, die ein Maximum von Sicherheit gewähren. Selbst die amerikanische Armee, die über 10 Jahre lang umfangreiche Tierfütterungsversuche mit bestrahlten Lebensmitteln ausführen ließ, mußte sich, nachdem die FDA Zweifel an der Unbedenklichkeit bestrahlten Schinkens geäußert hatte, kürzlich dazu entschließen, ein neues Forschungsprogramm aufzustellen, in dessen Rahmen allein für die Prüfung von bestrahltem Schinken über 2,5 Millionen Dollar ausgegeben werden sollen.

Bei der Durchführung der Versuche zur toxikologischen Prüfung bestrahlter Lebensmittel kann man zwei Zielsetzungen unterscheiden. Ein Teil der Untersuchungen gilt der Vorbereitung der Zulassung bestimmter bestrahlter Lebensmittel, z. B. die im Auftrag der US-Armee ausgeführten Versuche zur Prüfung von bestrahltem Schinken. Andere Untersuchungen gelten der Klärung allgemeinerer Fragen. Sie haben das Ziel, unsere Kenntnisse über die strahlen-

und mit Alterungsvorgängen in Zusammenhang gebracht worden. Es ist zwar anzunehmen, daß die in bestrahlten Lebensmitteln vorhandenen Radikale spätestens in dem Augenblick verschwinden, in dem die Speise mit Speichel in Berührung kommt, doch erschien es angebracht, diese Frage im Tierversuch zu prüfen. Es wäre immerhin denkbar, daß freie Radikale oder deren Reaktionsprodukte mit Wasser (solvatisierte Elektronen, Hydroxylradikale, Wasserstoffatome u. a.) den Schleimhäuten des Verdauungskanals genügend nahe kommen, um empfindliche Zellstrukturen zu schädigen.

Ein ESR-Signal, das auf die Existenz langlebiger freier Radikale schließen läßt, wird u. a. bei bestrahltem Milchpulver beobachtet (Abb. 1). Die Radikalkonzentration ist abhängig von der Strahlendosis (Abb. 2). Wir füttern Ratten mit einer Diät, die zu 35 % aus Milchpulver besteht. Eine Gruppe von 40 Tieren erhält unbestrahltes, eine zweite Gruppe erhält mit der Dosis von 4,5 Mrad bestrahltes Milchpulver, das jede

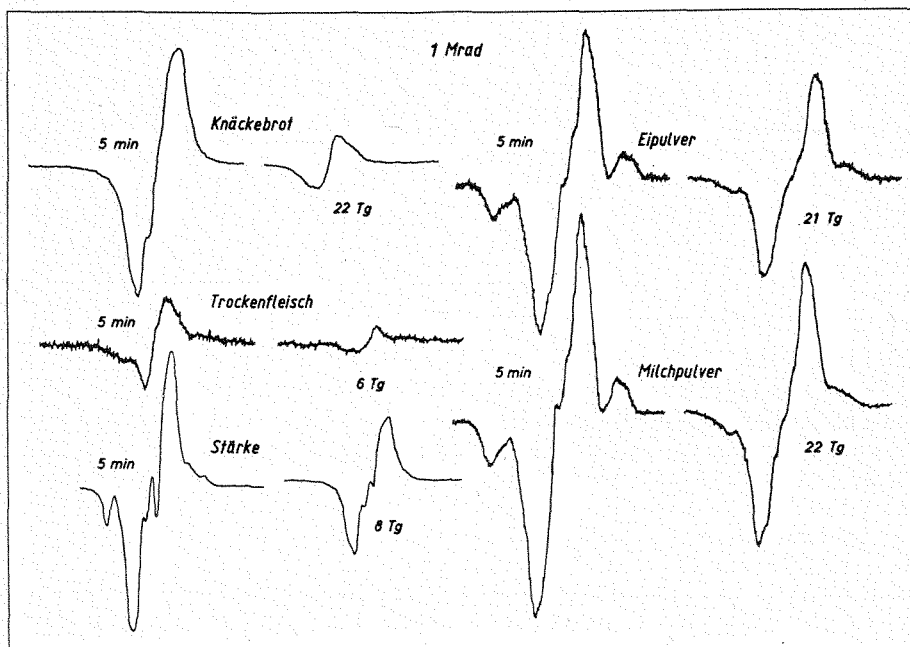


Abb. 1. ESR-Spektren verschiedener Lebensmittel, die mit einer Dosis von 1 Mrad bestrahlt wurden (Elektronenbeschleuniger). Die Spektren wurden 5 min nach Ende der Bestrahlung sowie nach 6- bis 22tägiger Lagerung aufgenommen (8).

induzierten Veränderungen in Lebensmitteln zu erweitern und bessere Grundlagen für die toxikologische Beurteilung bestrahlter Produkte zu schaffen. Zu dieser Kategorie gehört ein Versuch, der in unserem Arbeitskreis durchgeführt wird. Er gilt der Beantwortung der Frage, ob der Verzehr eines Nahrungsmittels mit einem hohen Gehalt an freien Radikalen zu schädlichen Wirkungen führt. Es ist bekannt, daß bei der Bestrahlung freie Radikale gebildet werden, die z. B. durch Elektronenspinresonanzmessung nachgewiesen werden können. Während in wasserhaltigen Lebensmitteln Radikale rasch verschwinden, lassen sie sich in trockenen Stoffen unter Umständen noch nach monatelanger Lagerung nachweisen⁽⁸⁾. Da die bei der direkten Bestrahlung von Lebewesen ausgelösten Schäden zum Teil durch strahleninduzierte freie Radikale verursacht werden, liegt die Frage nach einer möglichen biologischen Wirkung des Verzehrs radikalhaltiger Lebensmittel nahe. Das Vorhandensein freier Radikale in Geweben ist auch mit Krebsentstehung

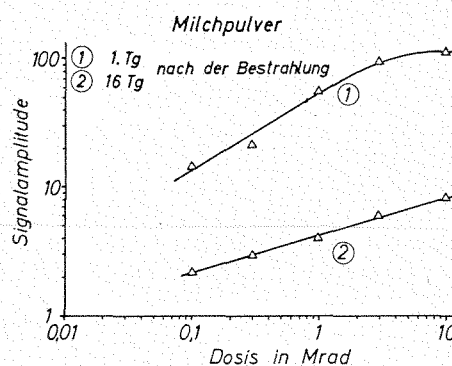


Abb. 2. Dosisabhängigkeit der Signalamplitude des ESR-Spektrums von Milchpulver. Das Spektrum wurde 5 min und 16 Tage nach der Bestrahlung registriert (8).

Woche frisch bestrahlt wird. Eine dritte Gruppe erhält normales Rattenfutter (Altromin R). Es ist keineswegs das Ziel dieser Untersuchung, die Voraussetzungen für die Zulassung der Milchpulverbestrahlung zu

klären — es geht uns vielmehr um die allgemeine Frage der möglichen biologischen Wirksamkeit langlebiger freier Radikale in der Nahrung.

Es werden folgende Parameter registriert: Gewichtszunahme, Futtermittelverzehr, Blutbild, Serumproteinmuster, Leberfunktionstest, Organengewichte, Histologie der Gewebe des Verdauungstrakts. Zur Prüfung der Fruchtbarkeit und Laktationsleistung werden von der Elterngeneration ausgehend vier weitere Generationen aufgezogen. Die Elterngeneration bleibt bis zum Lebensende im Versuch. In den Folgegenerationen wird ein Teil der weiblichen Tiere am 14. Tag der Schwangerschaft aus dem Versuch genommen und auf resorbierte oder mißgestaltete Föten untersucht („dominant lethal test“).

Die Elterngeneration ist jetzt über ein Jahr alt und zwei Folgegenerationen wurden aufgezogen. Aus den bisher erhaltenen Ergebnissen können wir nicht auf eine toxische Wirkung der Diät, die das bestrahlte Milchpulver enthält, schließen. Endgültige Aussagen werden jedoch erst nach Abschluß des Gesamtversuchs, der von meinen Mitarbeitern, *Drs. med. vet. D. Reichelt* und *H. Renner* durchgeführt wird, möglich sein.

Zusammenfassung

Es wird auf einige grundsätzliche Schwierigkeiten der tierexperimentellen Prüfung bestrahlter Lebensmittel hingewiesen und über einen Langzeit-Fütterungsversuch an Ratten berichtet. Er hat das Ziel, die Frage nach einer möglichen schädlichen Wirkung des Verzehrs von Lebens-

mitteln, die einen hohen Gehalt an langlebigen freien Radikalen besitzen, zu klären.

Summary

Some fundamental problems of testing irradiated foods in animal feeding studies are pointed out, and a report is given on a long-term experiment with rats. It is aimed at clarifying the question of possible deleterious effects of the consumption of foods having a high content of long-lived free radicals.

Résumé

L'article démontre certaines difficultés fondamentales surgissant lors d'expériences faites sur des animaux avec des denrées alimentaires conservées par irradiation ainsi qu'un essai de nourriture à longue échéance sur des rats. Le but de l'expérience est de trouver une solution à la question d'un possible effet nocif de la consommation des denrées contenant une haute quantité de radicaux libres à longue vie.

LITERATUR:

- 1) Diehl, J. F., Z. Lebensmittel-Untersuch. u. -Forsch., Beilage Ges. u. Verordn., 138, 61 (1968).
- 2) Mitteilung IV, Kommission zur Prüfung fremder Stoffe in Lebensmitteln, Deutsche Forschungsgemeinschaft, 1968. [vgl. auch DLR 66, 174; 1970].
- 3) Teply, L. J., B. E. Kline und S. S. Birdsall, Animal feeding studies on wholesomeness of radiated foods, Progr. rep. VI, VII, Contract No. MD-712, OTSG (1957).
- 4) Hilliard, W. G., W. T. Oliver und G. R. van Petten, Food Cosmet. Toxicol. 4, 577 (1966).
- 5) Diehl, J. F., Angew. Chem. 82, 522 (1970).
- 6) Diehl, J. F., Therapiewoche 18, 1146 (1968).
- 7) Reber, E. F., K. Raheja und D. Davis, Federation Proceedings 25, 1529 (1966).
- 8) Diehl, J. F. und S. Hofmann, Lebensm.-Wiss.-Technol. 1, 19 (1968).

Aus dem Institut für Angewandte Chemie der Universität Erlangen-Nürnberg (Direktor: Prof. Dr. O. Dann)

Nachweis und Bestimmung von Rückständen der herbiziden Säuren und Phenole in pflanzlichem Material

Von H.-P. Thier

Einleitung

Der Gehalt an Pestizidrückständen in pflanzlichen Lebensmitteln wird von den chemischen Untersuchungsämtern und zum Teil auch von den Kontrolllaboratorien der Lebensmittelindustrie überwacht. Dort prüft man heute fast ausschließlich auf Restmengen der insektiziden Chlorkohlenwasserstoffe (CIKW) und Phosphorsäureester (PSE) sowie einiger chlorhaltiger Fungizide und Akarizide. Es ist sinnvoll, diese Gruppen zu untersuchen, denn zu den CIKW und PSE gehören zahlreiche Insektizide, deren Rückstände toxikologisch recht bedenklich sind. Der Hauptgrund für diese Auswahl aber ist, daß nur für CIKW und PSE Untersuchungsmethoden bekannt sind, mit denen man in einem Arbeitsgang gleichzeitig eine größere Anzahl von Wirkstoffen erfassen kann.

Die höchstzulässigen Konzentrationen für Pflanzenschutzmittelrückstände sind in der Bundesrepublik durch die Höchstmengen-Verordnung¹⁾ festgelegt. In dieser Verordnung sind die Grenzwerte für CIKW und PSE angegeben, aber auch für zahlreiche weitere Pestizide, deren Gehalt im allgemeinen nicht überwacht wird. Darüber hinaus gibt es viele Wirkstoffe, die zwar in der Bundesrepublik auf Grund des Pflanzenschutzmittel-Verzeichnisses²⁾ der Biologischen Bundesanstalt angewendet werden dürfen, aber nicht in der Höchstmengen-Verordnung aufgeführt sind. Dazu kommen die Rückstände der Pestizide, die nur im Ausland gebräuchlich sind und in importierten Lebensmitteln vorkommen können.

Im Prinzip könnten die Rückstände aller Wirkstoffe analytisch bestimmt werden, denn in der Literatur sind entsprechende Untersuchungsmethoden bereits beschrieben worden. Mit diesen Methoden kann man aber meist nur eine einzelne Verbindung erfassen. So wird der Arbeitsaufwand für ein Labor schon dann unzumutbar groß, wenn man in einem Lebensmittel allein die Rückstände der Pestizide bestimmen will, die in der Höchstmengen-Verordnung aufgeführt sind.

Die beste Lösung für dieses Problem wäre ein Analysengang, der es erlaubt, die Rückstände möglichst vieler Pflanzenschutzmittel gleichzeitig aus einer Probe zu extrahieren und mit chromatographischen Methoden zu bestimmen.

Als erster Schritt in dieser Richtung wurde in der vorliegenden Arbeit eine häufig verwendete Analysenmethode^{3, 4, 5, 6)} für CIKW und PSE derart modifiziert, daß in einem Arbeitsgang auch alle sauren Pestizide (mit einer Carboxylgruppe oder einer phenolischen Hydroxylgruppe) miterfaßt werden können. Das Ziel war ein Trennungsgang, mit dem möglichst die gleichen Lösungsmittel und Reagentien und auch die gleichen Bestimmungsmethoden verwendet werden können, die bei der Untersuchung auf Rückstände von CIKW und PSE bereits eingeführt sind.

Die untersuchten Wirkstoffe sind in Tabelle 1 aufgeführt. Soweit sie im Pflanzenschutzmittel-Verzeichnis²⁾ erwähnt sind, wurden die dort angegebenen