



Journal für Kulturpflanzen

Journal of Cultivated Plants

Themenheft Pyrrolizidinalkaloide in Arznei- und Gewürzpflanzen

4

Band 72
April 2020
Print: ISSN 1867-0911
Internet: ISSN 1867-0938



ulmer



JKI

Julius Kühn-Institut

Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen

Journal für Kulturpflanzen

Journal of Cultivated Plants



Journal für Kulturpflanzen vereint mit Pflanzenbauwissenschaften
Print: ISSN 1867-0911, Internet: ISSN 1867-0938
Homepage: <https://ojs.openagrar.de/index.php/Kulturpflanzenjournal>

Charakteristik

Das Journal für Kulturpflanzen enthält wissenschaftliche Originalbeiträge, Übersichtsarbeiten und Berichte zu allen Themengebieten der Kulturpflanzen, z. B. Pflanzenbau, Pflanzenschutz und Phytomedizin, Pflanzengesundheit, Pflanzengenetik, Pflanzenernährung, Bodenkunde, Bienenschutz, Pflanzenschutztechnik, Vorratsschutz. Außerdem werden Mitteilungen und Nachrichten, Personalien, Literaturhinweise und Buchbesprechungen veröffentlicht.

Verantwortlicher Herausgeber / Editor-in-Chief

Prof. Dr. Frank Ordon, Präsident und Professor des Julius Kühn-Instituts – Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Erwin-Baur-Str. 27, 06484 Quedlinburg

Schriftleitung / Managing Editor

Dr. Anja Hühnlein, Julius Kühn-Institut – Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Erwin-Baur-Str. 27, 06484 Quedlinburg, Tel.: 03946/47-2206, E-Mail: journal-kulturpflanzen@julius-kuehn.de

Co-Schriftleitung

Dr. Ulrike Stahl (JKI Quedlinburg)

Co-Schriftleitung Pflanzenbauwissenschaften

Prof. Dr. Hans-Peter Kaul (Universität für Bodenkultur Wien)

Redaktionsbeirat / Editorial Board

Prof. Dr. Henryk Flachowsky (JKI Dresden)
Prof. Dr. Simone Graeff-Hönniger (Universität Hohenheim)
Prof. Dr. Jörg Michael Greef (JKI Braunschweig)
Prof. Dr. Johannes Hallmann (JKI Braunschweig)
Dr. Olaf Hering (JKI Berlin)
Prof. Dr. Johannes Jehle (JKI Darmstadt)
Prof. Dr. Wilhelm Jelkmann (JKI Dossenheim)
Dr. Hella Kehlenbeck (JKI Kleinmachnow)
Dr. Heinz-Josef Koch (Institut für Zuckerrübenforschung Göttingen)
Prof. Dr. Carola Pekrun (Hochschule für Wirtschaft und Umwelt Nürtingen-Geislingen)
Dr. Jens Pistorius (JKI Braunschweig)
Dr. Bernhard Carl Schäfer (JKI Braunschweig)
Prof. Dr. Dr. h.c. Ewald Schnug (JKI Braunschweig)
Dr. Hartwig Schulz (JKI Berlin)
Dr. Günter Schumann (JKI Quedlinburg)
Prof. Dr. Hartmut Stützel (Leibniz Universität Hannover)
Prof. Dr. Friedhelm Taube (Christian-Albrechts-Universität zu Kiel)
Prof. Dr. Reinhard Töpfer (JKI Siebeldingen)
Dr. Ute Katharina Vogler (JKI Braunschweig)
Prof. Dr. Jens Karl Wegener (JKI Braunschweig)
Dr. Peter Wehling (JKI Groß Lüsewitz)
Dr. Ralf Wilhelm (JKI Quedlinburg)
Prof. Dr. Peter Zwerger (JKI Braunschweig)

Wissenschaftlicher Beirat

Prof. Dr. Wolfgang Friedt (Justus-Liebig-Universität Gießen)
Dr. Erich Jörg (Ministerium für Wirtschaft, Verkehr, Landwirtschaft und Weinbau Rheinland-Pfalz)
Elmar Pfülb (Bundessortenamt Hannover)
Prof. Dr. Bernward Märlander (Institut für Zuckerrübenforschung Göttingen)
Mag. Astrid Plenk (AGES - Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit GmbH)
Prof. Dr. Joseph-Alexander Verreet (Christian-Albrechts-Universität zu Kiel)

Manuskripteinreichung

Bitte reichen Sie Original- und Übersichtsarbeiten sowie Kurzmitteilungen und Nachrichten über das elektronische Zeitschriftenverwaltungssystem ein: <https://ojs.openagrar.de/index.php/Kulturpflanzenjournal>.

Um die Einreichung zu beginnen, registrieren Sie sich als Nutzer der Zeitschrift über einen Klick auf „Registrieren“ im oberen rechten Bildschirmrand. Nach erfolgreicher Manuskripteinreichung erhalten Sie eine Bestätigung per E-Mail. Indem Sie sich mit Ihrem Benutzernamen und Passwort im System anmelden, können Sie jederzeit den Status Ihrer Einreichung einsehen.

Bei Fragen zur Manuskripteinreichung kontaktieren Sie gern die

Schriftleiterin Dr. Anja Hühnlein (Tel.: 03946 47-2206,

E-Mail: journal-kulturpflanzen@julius-kuehn.de).

Hinweis für Autoren der zweimal jährlich erscheinenden Ausgabe

„Pflanzenbauwissenschaften“: Bitte machen Sie zu Beginn der Einreichung im Feld „Kommentare für die Redaktion“ deutlich, dass es sich um einen Beitrag für die Pflanzenbauwissenschaften handelt.

Verlag

Eugen Ulmer KG, Wollgrasweg 41, 70599 Stuttgart (Hohenheim).

Telefon (0711) 45 07-0, Fax (0711) 45 07-1 20.

E-Mail: info@ulmer.de, UST-ID: DE147639185.

Vertrieb: Daniela Knorre.

Leserservice: Nadine Wieland.

Tel. (0711) 4507-105, Fax - 120, E-Mail: leserservice@ulmer.de

Anzeigen: Marc Alber, verantwortlich.

Preisliste Nr. 15 gültig seit 1. 1. 2009. Anzeigenschluss am 20. des Vormonats.

Bankverbindungen

Deutsche Bank AG Stuttgart IBAN:

DE62 6007 0070 0147 6878 00 (BIC: DEUTDE33XXX)

Bank Austria Bregenz IBAN: AT18 1200 0518 8801 4200 (BIC: BKAUATWW)

PostFinance Zürich IBAN: CH86 0900 0000 8004 7072 8 (BIC: POFICHBEXXX)

Abonnements

Das Journal für Kulturpflanzen erscheint monatlich. Jahresbezugspreis Inland als Postvertriebsstück € 249,60 inkl. MwSt. Ausland Gesamtpreis € 258,70.

Einzelheftpreis € 22,00 zzgl. Versandkosten. Die Einzel- sowie Gesamtpreise sind preisgebunden. Berechnung: sofern nicht anders vereinbart, jeweils innerhalb des Kalenderjahres. Kündigungsfrist: 6 Wochen zum Ende des Rechnungszeitraums. Bestellungen nehmen jede Buchhandlung und der Verlag entgegen.

Druck

Ungeheuer + Ulmer KG GmbH + Co, Körnerstraße 14–18, 71634 Ludwigsburg.

Satz und Herstellung

mediaTEXT Jena GmbH, www.mediatext.de

Copyright



Seit Januar 2019 werden alle wissenschaftlichen Beiträge im Journal für Kulturpflanzen als Open-Access-Artikel unter den Bedingungen der Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz (CC BY 4.0) zur Verfügung gestellt (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.de>).

Beitragseinreichung:

<https://ojs.openagrar.de/index.php/Kulturpflanzenjournal>



Pyrrrolizidinalkaloide (PA) in Arznei- und Gewürzpflanzen

Die Kenntnis von Pflanzenarten mit gesundheitsgefährdenden Inhaltsstoffen ist sicher so alt, wie die Menschheit. Die Bildung von sekundären Pflanzeninhaltsstoffen der Gruppe der Pyrrrolizidinalkaloide (PA) beispielsweise in Arten der Gattungen *Senecio*, *Tussilago* (Compositae), oder *Symphytum* und *Borago* (Boraginaceae) ist seit langem beschrieben und die Toxizität der PA bekannt.

Die Veröffentlichung der Studie „Pyrrrolizidinalkaloide in Kräutertees und Tees“ des Bundesinstitutes für Risikobewertung (BfR) (<https://mobil.bfr.bund.de/cm/343/pyrrrolizidinalkaloide-in-kraeutertees-und-tees.pdf>), veröffentlicht im Sommer 2013, hat große Verunsicherung ausgelöst, denn sie hat die Aufmerksamkeit der Verbraucherinnen und Verbraucher auf Kontaminationen von Lebensmittel- und Arzneitees mit toxischen Pyrrrolizidinalkaloiden gelenkt. Auch unter den deutschen Produzenten der pflanzlichen Rohstoffe löste die Meldung regelrechte Schockwellen aus. Zeitweise wurde von der weiteren Verwendung von Lebensmittel- und Arzneitees abgeraten. In der öffentlichen Wahrnehmung war Tee bis zu diesem Zeitpunkt ein unbedenkliches Produkt mit gesundheitsfördernden Eigenschaften.

Die Studie bezog die „folgende(n) Kräuterteesorten ... in die Schätzung der Exposition ein: Babyfencheltee, Fencheltee, Kamillente, Kräutertee, Pfefferminztee, Brennnesseltee und Melissentee.“ Es „wurden 221 verschiedene handelsübliche Kräutertee- und Teeproben sowie Teedrogen (184 Kräutertee- und Teeproben aus dem Lebensmitteleinzelhandel und 37 Teedrogen aus der Apotheke) auf den Gehalt an 1,2-ungesättigten Pyrrrolizidinalkaloiden (PA) untersucht.“ „Für jede Probe wurde der Gesamt-PA-Gehalt als Summe aus den ermittelten Einzelgehalten berechnet.“ Die nicht repräsentative Studie nennt „PA-Summengehalte in den untersuchten Kräutertee- und Teeproben von 0 bis 3,4 Milligramm pro Kilogramm Trockenprodukt“. Da es sich bei den beprobten Tees um Produkte aus Arten handelt, die keine PA im Stoffwechsel bilden, war klar, dass es sich um Kontaminationen handeln musste.

Schnell bestand Konsens, das zur Lösung dieses Problems die gesamte Produktionskette mit den involvierten Partnern betrachtet werden muss. Dies betrifft Anbauer der pflanzlichen Rohstoffe, Zwischenhändler und Verarbeiter ebenso, wie für Kontrolle und Grenzwertsetzung zuständige Behörden.

Das vorgelegte Themenheft Pyrrrolizidinalkaloide (PA) in Arznei- und Gewürzpflanzen stellt wichtige Ansätze dar, die Kontaminationen genau zu erfassen und Strategien zu entwickeln für deren gezielte Verringerung. Die Bestimmung von Grenzwerten ist in diesem Zusammenhang von besonderer Bedeutung. Die bislang erreichten Ergebnisse sind bemerkenswert und wurden wesentlich durch ein konzertiertes Vorgehen von Erzeugern, Verarbeitern und regulierenden Institutionen ermöglicht.

Übersichtsarbeiten führen die Leser*innen in die Problematik ein, stellen die Gefahren aus dem Konsum von PA-belasteten Produkten dar und bewerten diese. Die geltenden Grenzwerte werden beschrieben, ebenso wie Kontaminationsquellen und Vermeidungsstrategien. Für die Haupteintragsquelle in Deutschland Gewöhnliches Greiskraut (*Senecio vulgaris*) gibt es Erkenntnisse über die Zusammensetzung des PA-Musters in Abhängigkeit vom Entwicklungsstadium und der Jahreszeit. Vorge stellt werden vielversprechende Ergebnisse bezüglich der Reinigung von Körnerteedrogen und der spektroskopischen Bestimmung von PA.

Inzwischen liegen Resultate aus Projekten zu Unkrautbesatz in Produktionsbeständen von Arznei- und Gewürzpflanzen vor, die das Gewöhnliche Greiskraut (*Senecio vulgaris*) als wichtigste Quelle quantifizieren (FLADE et al., 2019: Occurrence of nine pyrrrolizidine alkaloids in *Senecio vulgaris* L. depending on developmental stage and season. *Plants* 8 (3), DOI: 10.3390/plants8030054; NITZSCHE et al., 2018: Pyrrrolizidine alkaloid-containing weeds in medical and herb plant cultures – Distribution and danger of contamination in crop products in Germany. *Julius-Kuhn-Archiv* 458, 408-418, DOI: 10.5073/jka.2018.458.060). Wesentliche Fragen zur Toxikologie wer-

Affiliation

Julius Kühn-Institut (JKI) – Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Züchtungsforschung an gartenbaulichen Kulturen, Quedlinburg

Kontaktanschrift

Dr. Frank Marthe, Julius Kühn-Institut (JKI) – Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Züchtungsforschung an gartenbaulichen Kulturen, Erwin-Baur-Str. 27, 06484 Quedlinburg, E-Mail: frank.marthe@julius-kuehn.de

den in Projekten unter Leitung von Prof. Schrenk, Technische Universität Kaiserslautern bearbeitet (MERZ und SCHRENK, 2016: Interim relative potency factors for the toxicological risk assessment of pyrrolizidine alkaloids in food and herbal medicines. *Toxicology letters* **263**, 44-57, DOI: 10.1016/j.toxlet.2016.05.002).

Untersuchungen zur Aufnahme von PAs in Pflanzen, die selbst keine PAs erzeugen, beschreiben eine direkte Kontamination durch horizontalen PA-Transfer (SELMAR

et al., 2019: Transfer of pyrrolizidine alkaloids between living plants: A disregarded source of contaminations. *Environmental pollution* **248**, 456-461, DOI: 10.1016/j.envpol.2019.02.026).

Die Weiterführung des begonnenen konzertierten Ansatzes wird zur abgewogenen Bewertung der Problematik auf Grundlage valider wissenschaftlicher Erkenntnisse führen. Dieses Vorgehen kann auch beispielgebend für die Lösung zukünftiger komplexer Fragestellungen sein.

Benjamin Sachse¹, Anja These², Matthias Gehling², Stephanie Taube³, Christine Sommerfeld³, Oliver Lindtner³, Bernd Schäfer¹

Risiken von Pyrrolizidinalkaloiden in Tee und Kräutertee

Risks of pyrrolizidine alkaloids in tea and herbal infusions

63

Zusammenfassung

Pyrrolizidinalkaloide (PA) sind sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe, die von einer Vielzahl von Pflanzen gebildet werden und u. a. zur Abwehr von Fraßfeinden dienen. Toxikologisch bedeutsam sind die PA, die eine Doppelbindung in 1,2-Position aufweisen. Diese können zu gesundheitlichen Schäden bei Mensch und Tier führen, wobei die Leber das Hauptzielorgan darstellt. Neben den bekannten hepatotoxischen Effekten können 1,2-ungesättigte PA auch die DNA schädigen und krebserzeugend wirken. Die Verbindungen gelangen in erster Linie über Wild- und Beikräuter in die Lebensmittelkette. In der im Jahr 2016 durch das Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) veröffentlichten Bewertung stellte der Verzehr von kontaminiertem Tee und Kräutertee die wesentliche Expositionsquelle für die Bevölkerung gegenüber 1,2-ungesättigten PA in Deutschland dar; aber auch andere Lebensmittel können zur Aufnahme beitragen. In der vorliegenden Arbeit, in der ausschließlich Tee und Kräutertee berücksichtigt werden, zeigt sich, dass die Gehalte an 1,2-ungesättigten PA in dieser Lebensmittelgruppe im Vergleich zu 2016 deutlich gesunken sind. Dennoch kann es insbesondere bei Personen, die langfristig hohe Mengen Kräutertee bzw. Rooibostee verzehren, auch gegenwärtig noch zu Aufnahmemengen kommen, die in einem *Margin of Exposure* von unter 10.000 resultieren, weshalb es auch weiterhin angezeigt scheint, Maßnahmen zur Senkung der Gehalte durchzuführen.

Stichwörter: Pyrrolizidinalkaloide, Tee, Kräutertee, Risikobewertung, Expositionsschätzung

Abstract

Pyrrolizidine alkaloids (PA) are secondary plant metabolites which are produced by a large number of plants, e. g. to ward off herbivores. PA with a double bond in the 1,2-position are of toxicological relevance. These derivatives can cause adverse health effects in humans and animals, with the liver being the major target organ. Besides the known hepatotoxic effects, 1,2-unsaturated PA may also damage DNA and may be carcinogenic. The occurrence of these compounds in foods is primarily caused by contamination with wild herbs. In the assessment published in 2016 by the German Federal Institute for Risk Assessment (BfR), consumption of contaminated tea and herbal tea was the main source of exposure for the population to 1,2-unsaturated PA in Germany; however, other foods can also contribute to intake. The present study, which focuses exclusively on tea and herbal tea, shows that levels of 1,2-unsaturated PA in this food group have decreased significantly compared to 2016. Nevertheless, persons who consume high amounts of herbal tea or rooibos tea in the long term may still be exposed to intakes that result in a margin of exposure of less than 10,000, which is why it still seems appropriate to implement measures to reduce the levels.

Key words: pyrrolizidine alkaloids, tea, herbal infusion, risk assessment, exposure assessment

Affiliationen

Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR), Abteilung Lebensmittelsicherheit, Berlin, Deutschland¹

Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR), Abteilung Sicherheit in der Nahrungskette, Berlin, Deutschland²

Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR), Abteilung Exposition, Berlin, Deutschland³

Kontaktanschrift

Dr. Benjamin Sachse, Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR), Abteilung Lebensmittelsicherheit, Max-Dohrn-Strasse 8–10, 10589 Berlin, E-Mail: benjamin.sachse@bfr.bund.de

Zur Veröffentlichung angenommen

09. August 2019

Einleitung

Bei Pyrrolizidinalkaloiden (PA) handelt es sich um eine große Gruppe sekundärer Pflanzeninhaltsstoffe – mehrere hundert PA und deren *N*-Oxide sind bislang bekannt (WIEDENFELD et al., 2008). Die Verbindungen erfüllen mehrere ökologische Funktionen. Zum einen dienen sie den Pflanzen als Schutzmechanismus gegen Fraßfeinde, daneben fungieren sie aber beispielsweise auch als Lockstoff für bestimmte Insekten (WINK, 2019). Auf Grundlage chemotaxonomischer Überlegungen wird davon ausgegangen, dass PA weltweit in mehr als 6000 verschiedenen Pflanzenspezies vorkommen (TEUSCHER und LINDEQUIST, 2010). Die PA-bildenden Pflanzen gehören vornehmlich den Familien der Korbblütler (*Asteraceae*), der Rauhblatt- oder Borretschgewächse (*Boraginaceae*) und der Hülsenfrüchtler (*Fabaceae* oder *Leguminosae*) an (SMITH und CULVENOR, 1981). In PA-bildenden Pflanzenarten kommen sehr viele strukturell unterschiedliche PA vor. Insbesondere einige Boraginaceen-Arten weisen eine hohe strukturelle Vielfalt auf (THESE et al., 2013). Die genaue Zusammensetzung der PA-Profile sowie die Gehalte können auch in der gleichen Pflanzenart, in Abhängigkeit beispielsweise von den Wachstumsbedingungen sowie dem Alter der Pflanze, variieren. Darüber hinaus können verschiedene Pflanzenteile unterschiedlich hohe Gehalte aufweisen (ALLGAIER und FRANZ, 2015).

Aus chemischer Sicht handelt es sich bei PA um Ester aus einer Necinbase (1-Hydroxymethylpyrrolizidin-Grundgerüst) und Necinsäuren (aliphatischen Mono- oder Dicarbonsäuren). Sie können als Monoester (Veresterung der Hydroxylgruppe am C9) oder als Diester (Veresterung einer weiteren Hydroxylgruppe am C7) vorliegen. Erfolgt die Veresterung beider Carboxylgruppen durch eine Dicarbonsäure, so entsteht ein zyklischer Diester. Je nach Struktur der Necinbase werden im Wesentlichen PA vom Retronecin-, Heliotridin-, Otonecin- oder Platynecin-Typ unterschieden (Abb. 1). Während die ersten drei Typen eine Doppelbindung zwischen Position C1 und C2 aufweisen, handelt es sich beim Platynecin-Typ um eine gesättigte Necinstruktur. PA vom Retronecin- und Heliotridin-Typ unterscheiden sich nur dadurch, dass es sich bei ihnen um Diastereomere an Position C7 handelt (HARTMANN und WITTE, 1995).

Es ist bereits seit vielen Jahrzehnten bekannt, dass bestimmte PA ein toxisches Potenzial aufweisen. Toxikologische Relevanz besitzen dabei in erster Linie die 1,2-ungesättigten PA, die außerdem mindestens eine verzweigte Necinsäure enthalten. Zu diesen Verbindungen

zählen die PA des Retronecin-, Heliotridin- und Otonecin-Typs, nicht jedoch die gesättigten PA des Platynecin-Typs. Von letzteren wird gemeinhin angenommen, dass sie eine geringe Toxizität aufweisen (IPCS/INCHEM, 1988; WIEDENFELD et al., 2008; RUAN et al., 2013; ALLGAIER und FRANZ, 2015; FU, 2017).

Bei Weidewieh werden immer wieder schwere und häufig letal verlaufende Vergiftungen beobachtet, nachdem die Tiere Wildkräuter aufgenommen haben, die 1,2-ungesättigte PA bilden (FU et al., 2017; PANZIERA et al., 2018). Derartige vergiftungsbedingte Erkrankungen sind beispielsweise unter den Namen „Walking disease“ (USA), „Dunziekte“ (Südafrika), „Winton disease“ (Neuseeland) oder „Schweinsberger Krankheit“ (Deutschland) bekannt. Bei Schlachtrindern, die Alpenkreuzkraut über Heu und Silage aufgenommen haben, wurde das gehäufte Auftreten von Leberzirrhosen beschrieben. Bei Pferden wurden mit Leberdegeneration einhergehende Erkrankungen, die Seneciosen oder auch die „Zdärer Pferdeseuche“, beobachtet (PETZINGER, 2011a, b).

Beim Menschen werden immer wieder schwere Vergiftungen mit zum Teil tödlichem Ausgang nach Aufnahme großer Mengen an 1,2-ungesättigten PA berichtet. In den letzten Jahrzehnten sind beispielsweise in Afghanistan mehrere tausend Fälle von endemisch auftretenden Vergiftungen dokumentiert worden, die durch Verzehr von Getreide, das mit 1,2-ungesättigten PA kontaminiert war, verursacht wurden. Die Kontaminationen wurden dabei durch eine starke Ausbreitung von Pflanzen der Gattung *Heliotropium* in den Getreidefeldern verursacht (MOLYNEUX et al., 1991; KAKAR et al., 2010). Gerade im asiatischen Raum werden Vergiftungen zudem mit der Aufnahme bestimmter Kräuter in Verbindung gebracht, die dort im Rahmen der traditionellen chinesischen Medizin Anwendung finden und entweder selbst 1,2-ungesättigte PA enthalten oder aber mit PA-haltigen Kräutern verwechselt werden bzw. mit diesen kontaminiert sind (DAI et al., 2007; MA et al., 2018; ZHUGE et al., 2019).

1,2-ungesättigte PA können über verschiedene Wege in die Lebensmittelkette gelangen. Zum einen kann es bei der Ernte pflanzlicher Erzeugnisse wie Tee zu einer Kontamination durch PA-haltige Wild- oder Beikräuter kommen; zum anderen werden gelegentlich auch Pflanzen, die selbst 1,2-ungesättigte PA bilden, als Lebensmittel verwendet. Ein Beispiel: Borretsch, der 1,2-ungesättigte PA bildet, gilt als charakteristische Gewürzpflanze in der „Frankfurter Grünen Soße“. Auch pflanzenbasierte Nahrungsergänzungsmittel (NEM) können auf der Basis von Pflanzen und Pflanzenteilen oder -Extrakten hergestellt

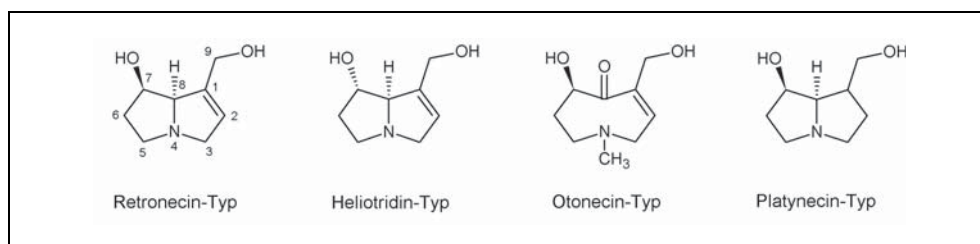


Abb. 1. Grundstrukturen der wesentlichen Typen von Necinbasen.

sein, die selbst 1,2-ungesättigte PA bilden. Daneben ist prinzipiell außerdem ein Übergang aus belasteten Futtermitteln in tierische Lebensmittel (Fleisch, Milch und Eier) möglich.

In der im Jahr 2016 durch das Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) veröffentlichten Bewertung stellte der Verzehr von kontaminiertem Tee und Kräutertee die wesentliche Expositionsquelle für die Bevölkerung gegenüber 1,2-ungesättigten PA in Deutschland dar. Daher fokussiert sich der vorliegende Artikel auf diese Lebensmittelgruppe. Es soll an dieser Stelle aber ausdrücklich darauf hingewiesen werden, dass für die Bewertung möglicher gesundheitlicher Risiken grundsätzlich die Gesamtexposition gegenüber diesen Pflanzentoxinen über alle Lebensmittel herangezogen werden muss.

Wie wirken die 1,2-ungesättigten PA im Organismus?

1,2-ungesättigte PA sind Protoxine, die zu hochreaktiven toxischen Pyrrol-Derivaten umgewandelt werden

Der Metabolismus 1,2-ungesättigter PA sowie ihrer *N*-Oxide umfasst sowohl toxischierende als auch detoxifizierende Schritte (FU et al., 2004; WIEDENFELD et al., 2008). Die Toxizität einzelner 1,2-ungesättigter PA hängt vermutlich maßgeblich davon ab, welche der beiden metabolischen Routen (entgiftende Route und Ausscheidung oder Toxifizierung) quantitativ dominiert.

Zu den entgiftenden Reaktionen gehört zum einen die durch Esterasen katalysierte Hydrolyse der Ester (Abb. 2). Die Metaboliten in Form der Necinbase und der Necinsäuren scheinen toxikologisch keine Relevanz zu besitzen; sie werden aufgrund ihrer guten Wasserlöslichkeit

rasch ausgeschieden (FU et al., 2004; ALLGAIER und FRANZ, 2015). Die Hydrolysierbarkeit 1,2-ungesättigter PA durch Esterasen hat somit einen direkten Einfluss auf deren Toxizität. Da Ester mit stark verzweigten Necinsäuren aufgrund der sterischen Hinderung schlechter hydrolysiert und ausgeschieden werden, können diese Verbindungen prinzipiell eine höhere Toxizität aufweisen (MATTOCKS, 1982; WIEDENFELD et al., 2008). Bei den 1,2-ungesättigten PA vom Retronecin- und Heliotredin-Typ stellt die durch Cytochrom-P-450-Monooxygenasen (CYP) und/oder Flavin-abhängige Monooxygenasen (FMO) vermittelte *N*-Oxidation einen weiteren entgiftenden Pfad dar (Abb. 2). Die *N*-Oxide sind ebenfalls gut wasserlöslich und werden i.d.R. schnell mit dem Urin ausgeschieden. Nach oraler Aufnahme können *N*-Oxide allerdings durch Reduktasen im Darm oder in der Leber zur reduzierten Form der Alkaloide toxischiert werden (ALLGAIER und FRANZ, 2015; YANG et al., 2017).

Die Toxifizierung 1,2-ungesättigter PA wird ebenfalls durch Enzyme des Cytochrom-P-450-Systems vermittelt. Dabei scheinen beim Menschen insbesondere CYP3A4, CYP3A5 und CYP2A6, aber auch andere CYP-Enzyme, die Giftungsreaktion zu katalysieren (RUAN et al., 2014). Nach Hydroxylierung der Necinbase und anschließend spontan ablaufender Abspaltung von Wasser kommt es zur Bildung eines aromatischen Pyrrol-Systems, welches verhältnismäßig instabil ist. Unter spontaner Abspaltung der Necinsäuren kommt es zur Ausbildung hochreaktiver Carbokationen, die starke Alkylantien darstellen. Diese Intermediate können z.B. an nukleophile Strukturen von Proteinen bzw. der DNA binden, was zur Bildung von Protein- bzw. DNA-Addukten führt (Abb. 2). Außerdem kann es zur Quervernetzung dieser Strukturen unter Bil-

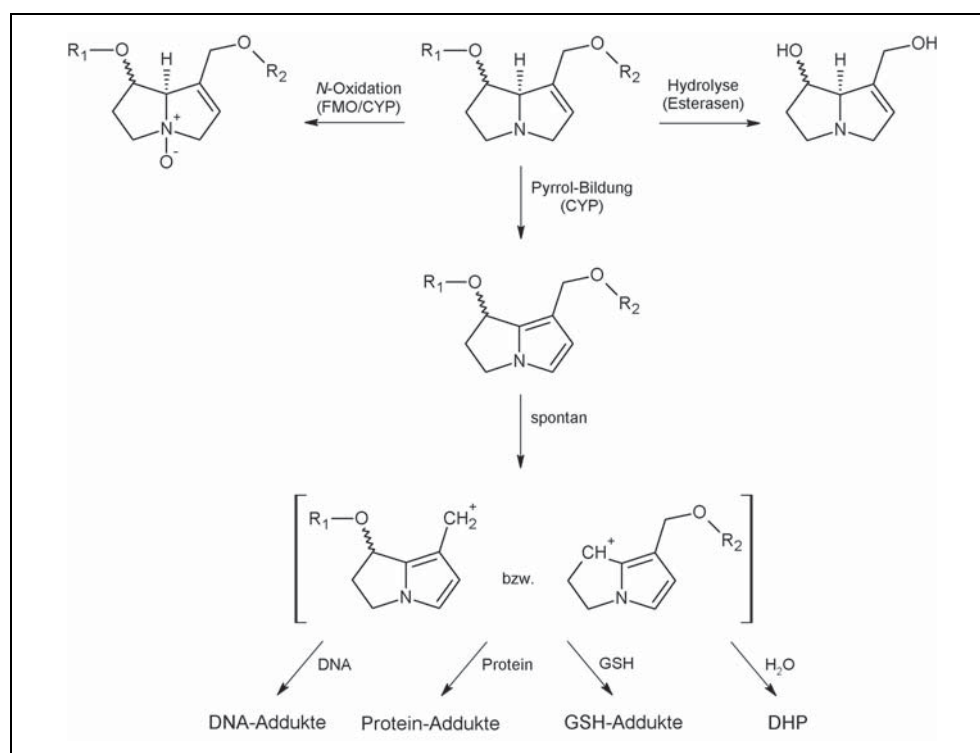


Abb. 2. Wesentliche metabolische Pfade 1,2-ungesättigter PA, einschließlich deren Toxifizierung zu reaktiven Pyrrol-Estern. R₁ und R₂: Necinsäuren; FMO: Flavin-abhängige Monooxygenasen; CYP: Cytochrom-P-450-Monooxygenasen; GSH: Glutathion; DHP: (±)-6,7-Dihydro-7-hydroxy-1-hydroxymethyl-5H-pyrrolizin.

dung von Protein-DNA-Crosslinks und DNA-DNA-Crosslinks kommen (FU, 2017). Diese kovalenten Modifikationen an Biomolekülen können zu einer Schädigung der Zelle führen. In der Konsequenz kann es u. a. zu einem Absterben der Zelle oder zu Fehlern am genetischen Material kommen. Die Bildung der reaktiven Pyrrol-Metaboliten wird daher als primäre Ursache sowohl für die nicht-neoplastische Schädigung der sinusoidalen Endothelien in der Leber als auch für die genotoxisch-karzinogenen Wirkungen angesehen (FU et al., 2004; WIEDENFELD et al., 2008; ALLGAIER und FRANZ, 2015; FU, 2017; MA et al., 2018). Der genaue Mechanismus der durch die Pyrrol-Verbindungen vermittelten Schädigung ist aber noch nicht in jedem Detail verstanden.

Neben der beschriebenen Alkylierung von Biomolekülen können die reaktiven Pyrrol-Ester auch durch spontane Reaktion mit Wasser zum racemischen (\pm)-6,7-Dihydro-7-hydroxy-1-hydroxymethyl-5H-pyrrolizin (DHP) hydrolysiert werden (Abb. 2), welches im Vergleich mit den Pyrrol-Estern weniger reaktiv ist, aber immer noch alkylierende Eigenschaften besitzt (FU et al., 2004; XIA et al., 2018). Außerdem können die reaktiven Pyrrol-Verbindungen mit reduziertem Glutathion (GSH) reagieren (Abb. 2) (XIA et al., 2015; CHEN et al., 2016). Insbesondere letztere Reaktion gilt prinzipiell als Entgiftungsmechanismus. Dabei ist allerdings zu beachten, dass neuere Erkenntnisse darauf hindeuten, dass die gebildeten GSH-Addukte, wie auch weitere potenzielle Pyrrol-Metaboliten, selbst eine gewisse Reaktivität aufweisen. So konnten Xia et al. im Zellkulturmodell zeigen, dass es auch durch verschiedene Metaboliten (u. a. 7,9-Di-Valin-DHP, 7-Valin-DHP, 7-GSH-DHP, 7-Cystein-DHP, Dehydroretronecin) zur Bildung charakteristischer DNA-Addukte kommen kann (XIA et al., 2018). Derartige Metaboliten verfügen im Vergleich zu den primär gebildeten Pyrrol-Estern über eine höhere Stabilität und bessere Wasserlöslichkeit und könnten daher in die Peripherie transportiert werden und dort zu vergleichbaren Schädigungen führen, wie sie auch in der Leber beobachtet werden (XIA et al., 2018). Alternativ erscheint es zudem möglich, dass die metabolische Aktivierung 1,2-ungesättigter PA in gewissem Umfang auch in bestimmten extrahepatischen Geweben stattfindet, was ebenfalls zur dort auftretenden Toxizität beitragen könnte.

Toxische PA-Metaboliten können Organe und Gewebe schädigen

Die Leber ist das primäre Zielorgan für Schädigungen durch 1,2-ungesättigte PA, was vermutlich durch die insbesondere dort ablaufende Aktivierung zu reaktiven Pyrrol-Estern bedingt ist. Jedoch können die Lunge oder andere Organe ebenfalls betroffen sein. Die Exposition gegenüber 1,2-ungesättigten PA kann sowohl zu nicht-neoplastischen Schädigungen als auch zu genotoxisch-karzinogenen Wirkungen führen. Bei höheren Dosen wurden im Tierversuch mit 1,2-ungesättigten PA außerdem entwicklungstoxische Effekte beobachtet (FU et al., 2004; CHEN et al., 2010; EDGAR et al., 2014; ALLGAIER und FRANZ, 2015).

Die nicht-neoplastischen Schädigungen äußern sich bei Mensch und Tier insbesondere in Form des sog. *hepatic sinusoidal obstruction syndrom* (HSOS), welches synonym auch als *hepatic veno-occlusive disease* (HVOD) bezeichnet wird. Dabei kommt es zu einer Schädigung sinusoidaler Endothelzellen, was sich u. a. in einem Anschwellen und Ablösen der betroffenen Zellen äußert. Dies führt zu einer Veränderung und Verlegung sinusoidaler Gefäße, was in der Folge zu haemorrhagischen Nekrosen des dahinter gelegenen Gewebes führen kann. Klinisch lassen sich bei den Betroffenen beispielsweise starke Bauchschmerzen, Schmerzen in der Leberregion, Anorexie, Fatigue, Aszites, Gelbsucht und Hepatomegalie beobachten. Schwere Vergiftungen verlaufen häufig letal, während bei leichten Vergiftungen eine vollständige Remission möglich ist (ALLGAIER und FRANZ, 2015; ZHUGE et al., 2019). Während die Symptome nach Aufnahme sehr hoher Dosen bereits nach wenigen Stunden bis Tagen einsetzen können, wurden bei Aufnahme mittlerer Dosen Krankheitssymptomen erst nach längerer Zeit beobachtet (BFR, 2013). Insbesondere bei Nutztieren und Nagern wurde nach chronischer Exposition außerdem eine Vergrößerung der Hepatozyten mit Bildung großer, hyperchromatischer Zellkerne beobachtet, was der antimitotischen Wirkung 1,2-ungesättigter PA zugeschrieben wird (NTP, 2003; FU et al., 2004; WIEDENFELD et al., 2008; FU, 2017).

Neben den Wirkungen auf die Leber ist auch eine Schädigung pulmonaler Endothelzellen möglich. Dies kann in der Folge zu pulmonaler Hypertonie und in weiterer Konsequenz zu Rechtsherzhypertrophie (*Cor pulmonale*) führen (WIEDENFELD et al., 2008; EDGAR et al., 2014; ALLGAIER und FRANZ, 2015).

Hochreaktive PA-Metaboliten können Krebs auslösen

In tierexperimentellen Untersuchungen, bei denen Ratten bestimmte 1,2-ungesättigte PA mit dem Futter oder per Schlundsonde erhielten, wurde ein vermehrtes Auftreten von Tumoren beobachtet. Ein entsprechendes Krebsrisiko für den Menschen wird in Betracht gezogen (IARC, 1976; DANNINGER et al., 1983; IARC, 1983; IPCS/INCHEM, 1988; IARC, 2002). Daher wurden bisher bspw. Lasiocarpin, Monocrotalin und Riddelliin von der *International Agency for Research on Cancer* als „möglicherweise krebserzeugend beim Menschen“ klassifiziert (IARC, 2019). Für andere 1,2-ungesättigte PA fehlen belastbare Daten, die diesbezüglich eine Einordnung erlauben würden. Allerdings gibt es für zahlreiche weitere 1,2-ungesättigte PA Hinweise aus Tierstudien, dass diese Verbindungen ebenfalls ein krebserzeugendes Potential besitzen. Das primäre Zielorgan ist auch bei den karzinogenen Wirkungen die Leber; durch 1,2-ungesättigte PA hervorgerufene Tumoren fanden sich aber bspw. auch in Lunge, Niere, Haut, Harnblase, Gehirn, Rückenmark, Pankreas und Nebenniere (CHEN et al., 2010). Die aussagekräftigsten Daten zur Kanzerogenität 1,2-ungesättigter PA, insbesondere mit Blick auf die Dosis-Wirkungs-Beziehung nach oraler Aufnahme, liegen für die Verbindungen Lasiocarpin und Riddelliin vor. Für beide

Verbindungen existiert jeweils eine Studie zur chronischen Toxizität, bei der das kanzerogene Potenzial der Substanzen nach oraler Aufnahme untersucht wurde. Als sensitivster Endpunkt wurde in beiden Studien eine erhöhte Inzidenz von Haemangiosarkomen der Leber identifiziert (NCI, 1978; NTP, 2003).

Für verschiedene 1,2-ungesättigte PA ist außerdem gut belegt, dass sie ein genotoxisches Potenzial besitzen. Die Verbindungen führen sowohl *in vitro* nach metabolischer Aktivierung als auch *in vivo* zu einer Schädigung der DNA (CHEN et al., 2010). Außerdem konnte in Studien an Nagern bereits gezeigt werden, dass nach Behandlung mit Riddelliin sowohl das durch PA induzierte DNA-Addukt-Niveau als auch die Mutationsrate in hepatischen Leberzellen grundsätzlich mit der Haemangiosarkombildung in diesem Gewebe korrelieren (CHEN et al., 2010).

Des Weiteren beobachteten HONG et al. (2003) in Riddelliin-induzierten Haemangiosarkomen gehäuft Mutationen im *K-ras*-Protoonkogen und eine verstärkte Expression des Tumorsuppressors p53 in durch Riddelliin maligne transformierten Endothelzellen. Es wird daher angenommen, dass die genotoxischen Wirkungen 1,2-ungesättigter PA für deren kanzerogenen Eigenschaften verantwortlich sind. Die charakteristischen DNA-Addukte werden dabei als ein initialer Schritt bei der chemisch-induzierten Kanzerogenese angesehen (FU, 2017). Der vollständige Mechanismus der in den tierexperimentellen Untersuchungen beobachteten kanzerogenen Wirkung ist bisher aber nicht abschließend aufgeklärt.

Tiere sind unterschiedlich empfindlich gegenüber den toxischen Wirkungen 1,2-ungesättigter PA

Unterschiede hinsichtlich der Suszeptibilität für die toxischen Wirkungen 1,2-ungesättigter PA sind für verschiedene Spezies durchaus bekannt – insbesondere auch mit Blick auf die nicht-neoplastischen Wirkungen. So gelten bspw. Huhn, Ente, Pferd, Rind, Schwein, Ratte und Maus als deutlich empfindlicher als Schaf, Ziege, Kaninchen und Meerschweinchen. Daneben können quantitative Unterschiede hinsichtlich der Empfindlichkeit auch zwischen verschiedenen Tierstämmen und bei einigen Spezies zwischen den Geschlechtern beobachtet werden.

Übertragbarkeit tierexperimenteller Befunde auf den Menschen

Das Auftreten nicht-neoplastischer Schädigungen nach kurz- bzw. mittelfristiger Aufnahme höherer Dosen an 1,2-ungesättigten PA über Lebensmittel ist durch zahlreiche Fallberichte auch für den Menschen gut belegt (DAI et al., 2007; KAKAR et al., 2010; MOLYNEUX et al., 2011; MA et al., 2018; ZHUGE et al., 2019). Epidemiologische Untersuchungen, die insbesondere über die mögliche kanzerogene Wirkung beim Menschen Aufschluss geben könnten, sind derzeit allerdings nicht verfügbar. Verschiedene experimentelle Befunde deuten aber darauf hin, dass die im Tiermodell beobachteten genotoxisch-kanzerogenen Wirkungen 1,2-ungesättigter PA grundsätzlich auch beim Menschen zu erwarten sind.

Da sowohl die nicht-neoplastischen als auch die genotoxisch-kanzerogenen Wirkungen 1,2-ungesättigter PA auf die Bildung reaktiver Pyrrol-Ester zurückgeführt werden (FU, 2017; MA et al., 2018), lässt bereits das beim Menschen beobachtete Auftreten der nicht-neoplastischen Schädigungen darauf schließen, dass die Toxifizierung zu genotoxisch-kanzerogenen Metaboliten zumindest qualitativ auch im Menschen erfolgt. Inzwischen wurde auch in mehreren Studien gezeigt, dass im Blut von Patienten mit schweren PA-induzierten Leberschäden Pyrrol-Protein-Addukte nachweisbar sind (LIN et al., 2011; GAO et al., 2015; RUAN et al., 2015; MA et al., 2018). Diese können als Biomarker für die systemische Exposition gegenüber den toxischen Pyrrol-Metaboliten angesehen werden. In einer Studie an Ratten wurde außerdem gezeigt, dass das Niveau der PA-induzierten Pyrrol-Protein-Addukte und das Niveau der für die genotoxisch-kanzerogenen Wirkung verantwortlich gemachten DNA-Addukte grundsätzlich miteinander korrelieren (XIA et al., 2016).

Im Gesamtbild deuten die Befunde darauf hin, dass die reaktiven Pyrrol-Ester auch im Menschen in relevanten Mengen gebildet werden und sich die Ergebnisse sowohl zu den hepatotoxischen als auch zu den genotoxisch-kanzerogenen Wirkungen aus Versuchen an Ratten auf den Menschen übertragen lassen.

Eine kürzlich veröffentlichte Studie von NING et al. (2019) deutet auf Grundlage von PBK-Modellierung (*physiologically based kinetic modeling*) darauf hin, dass der Mensch im Vergleich mit der Ratte eine höhere Suszeptibilität gegenüber den hepatotoxischen Wirkungen 1,2-ungesättigter PA aufweisen könnte. Im Rahmen dieser Studie wurden aber verschiedene Annahmen gemacht, die noch nicht abschließend beurteilt werden können.

Toxische Potenz verschiedener 1,2-ungesättigter PA

Wie bereits dargestellt, wird davon ausgegangen, dass die beobachteten Wirkungen 1,2-ungesättigter PA primär auf die Bildung reaktiver Pyrrol-Ester bzw. die durch diese bedingte Schädigung zellulärer Strukturen zurückzuführen sind (FU, 2017; MA et al., 2018). Die Bildung dieser toxischen Metaboliten ist prinzipiell für alle 1,2-ungesättigten PA denkbar und wurde auch schon für verschiedene Vertreter gezeigt (XIA et al., 2013). Es ist aber davon auszugehen, dass sich die Wirkstärke der verschiedenen Verbindungen in Abhängigkeit von der Struktur deutlich unterscheiden kann. Unterschiede in der toxischen Potenz wurden auch experimentell bereits nachgewiesen (MERZ und SCHRENK, 2016).

Im Rahmen aktueller Risikobewertungen werden die einzelnen 1,2-ungesättigten PA hinsichtlich ihrer krebs-erzeugenden Wirkung als Gruppe von äquipotenten Stoffen mit kumulativer Wirkung berücksichtigt, da nur wenige der bislang identifizierten 1,2-ungesättigten PA und deren *N*-Oxide diesbezüglich gut untersucht wurden, sodass vergleichende Aussagen zur krebs-erzeugenden Wirkung einzelner PA derzeit nicht möglich sind.

Es wird aber diskutiert, wie mögliche unterschiedliche Wirkstärken von einzelnen 1,2-ungesättigter PA und ihren

N-Oxiden künftig adäquat berücksichtigt werden könnten. In entsprechenden Untersuchungen wiesen bspw. die *N*-Oxide 1,2-ungesättigter PA im Vergleich zu den Muttersubstanzen i. d. R. eine geringere Potenz auf. Die Unterschiede können jedoch je nach Testsystem sehr unterschiedlich ausfallen (XIA et al., 2013; FIELD et al., 2015; MERZ und SCHRENK, 2016; HE et al., 2017; YANG et al., 2017). Zudem können sie durch bakterielle Reduktasen im Darm (Mikrobiom) bzw. durch zelluläre Reduktasen in der Leber in die reduzierte Form überführt werden. Daher wird den *N*-Oxiden nach oraler Aufnahme aus konservativen Erwägungen gegenwärtig meist eine vergleichbare Toxizität wie den Muttersubstanzen zugeschrieben (ALLGAIER und FRANZ, 2015; YANG et al., 2017).

Auf der Grundlage von Daten zur akuten Toxizität in Nagern, zur Zytotoxizität in Zellkultur und zur Genotoxizität in der Taufliege *Drosophila* schlagen Merz und Schrenk (MERZ und SCHRENK, 2016) sogenannte „interim Relative Potency“-Faktoren für 1,2-ungesättigte PA und ihre *N*-Oxide vor (1,0 für zyklische und offenkettige Diester mit 7*S*-Konfiguration, 0,3 für Monoester mit 7*S*-Konfiguration, 0,1 für offenkettige Diester mit 7*R*-Konfiguration und 0,01 für Monoester mit 7*R*-Konfiguration, *N*-Oxide werden wie die Muttersubstanz behandelt), die bei der Risikobewertung berücksichtigt werden könnten. CHEN et al. (2017) leiteten „interim relative potency“-Faktoren hingegen auf Basis von Daten zur Kanzerogenität für einige wenige 1,2-ungesättigte PA ab. ALLEMANG et al. (2018) haben die Genotoxizität verschiedener 1,2-ungesättigter PA im Mikrokernstest an der humanen HepaRG-Zelllinie untersucht und schlagen diese Befunde als eine mögliche Grundlage für einen Potenzvergleich vor.

Das BfR kommt zu dem Schluss, dass die auf Basis der gegenwärtig verfügbaren Daten abgeleiteten Potenzfaktoren für die Bewertung möglicher gesundheitlicher Risiken durch Exposition gegenüber 1,2-ungesättigten PA in Lebensmitteln aus unterschiedlichen Gründen noch nicht sinnvoll eingesetzt werden können. Diese Einschätzung deckt sich mit der Beurteilung der Europäischen Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA) (EFSA, 2017b).

Bewertung gesundheitlicher Risiken durch Aufnahme 1,2-ungesättigter PA

MOE-Konzept zur Bewertung genotoxisch-kanzeregener Wirkungen durch 1,2-ungesättigte PA

Im Hinblick auf die Risikobewertung sind insbesondere die kanzerogenen Wirkungen bedeutsam. Grundsätzlich lässt sich für genotoxisch-kanzerogen wirkende Verbindungen nach derzeitigem Kenntnisstand keine Aufnahmemenge ableiten, bei dessen Einhaltung oder Unterschreitung gesundheitliche Risiken mit hinreichender Gewissheit ausgeschlossen werden könnten – selbst geringe Aufnahmemengen könnten prinzipiell mit einer Erhöhung des gesundheitlichen Risikos verbunden sein, insbesondere bei regelmäßiger Exposition. Die genotoxisch-kanzerogenen Risiken sind somit der sensitivste Endpunkt und stehen bei der Bewertung chronischer Risiken

durch eine längerfristige Aufnahme 1,2-ungesättigter PA über Lebensmittel im Vordergrund der Betrachtung.

Zur Priorisierung der Dringlichkeit von Risikomanagementmaßnahmen wird bei genotoxisch-kanzerogenen Verbindungen in der Europäischen Union (EU) der *Margin of Exposure* (MOE)-Ansatz genutzt. Der MOE ist der Quotient aus einem geeigneten toxikologischen Referenzpunkt und der Exposition gegenüber der Substanz beim Menschen. Als Referenzpunkt für kanzerogen wirkende Substanzen wird üblicherweise das *Benchmark Dose Lower Confidence Limit 10%* (BMDL₁₀) herangezogen, das durch mathematische Modellierung (BMD-Modellierung) geeigneter Daten zur Dosis-Wirkungs-Beziehung ermittelt wird. Das BMDL₁₀ entspricht der unteren Grenze des Konfidenzintervalls der Dosis, die im Falle 1,2-ungesättigter PA in tierexperimentellen Untersuchungen mit einem zusätzlichen Krebsrisiko von 10% (*Benchmark Dose 10%*; BMD₁₀) gegenüber der Kontrollgruppe assoziiert ist. Grundsätzlich wird für genotoxische Kanzerogene ein MOE von 10.000 oder größer mit Blick auf die öffentliche Gesundheit als wenig bedenklich – allerdings nicht unbedenklich! – angesehen und daher als niedrige Priorität für Maßnahmen des Risikomanagements erachtet. Die abschließende Entscheidung, ab welchem MOE im Einzelfall eine Besorgnis besteht und Maßnahmen einzuleiten sind, ist aber in erster Linie eine Entscheidung des Risikomanagements (EFSA, 2005).

Für die Ableitung des BMDL₁₀ kommen stellvertretend für alle 1,2-ungesättigten PA insbesondere die Studien zur chronischen Toxizität mit Lasiocarpin (NCI, 1978) und Riddelliin (NTP, 2003) in Betracht, in denen das kanzerogene Potenzial der Substanzen nach oraler Aufnahme untersucht wurde. In beiden Studien wurde das vermehrte Auftreten von Haemangiosarkomen der Leber bei Ratten als sensitivster Endpunkt identifiziert. In ihren ursprünglichen Risikobewertungen leiteten sowohl EFSA als auch das BfR auf Grundlage der Daten zum Auftreten der Haemangiosarkome in der Studie mit Lasiocarpin einen BMDL₁₀ von 70 µg/kg Körpergewicht (KG) als geeigneten Referenzpunkt für den MOE-Ansatz ab (EFSA, 2011; BfR, 2016b). Dabei wurden bei der Modellierung der Daten zur Dosis-Wirkungs-Beziehung die Empfehlungen des Leitfadens „*Use of the benchmark dose approach in risk assessment*“ der EFSA aus dem Jahr 2009 berücksichtigt (EFSA, 2009). Im Jahr 2017 aktualisierte die EFSA ihre Bewertung. Dabei wurde auch eine erneute Modellierung der Tumordaten aus den bereits früher herangezogenen Studien mit Lasiocarpin und Riddelliin durchgeführt, wobei neue Erkenntnisse zur BMD-Modellierung, die im Frühjahr 2017 von der EFSA im Leitfaden „*Update: use of the benchmark dose approach in risk assessment*“ veröffentlicht wurden (EFSA, 2017a), berücksichtigt wurden. Insbesondere wurde dabei die sog. Modellierung (*model averaging*) genutzt, bei der die Ergebnisse aller für die Modellierung angewandten mathematischen Modelle gewichtet in das Endergebnis einfließen, anstatt ein einzelnes Modell für die abschließende Referenzpunktableitung auszuwählen. Das Auftreten von Haemangiosarkomen wurde weiterhin als sensitivster End-

punkt angesehen. EFSA gelangte aber zu dem Schluss, dass die Studie mit Riddelliin gemäß den neuen Erkenntnissen zur BMD-Modellierung eine verlässlichere Modellierung der Dosis-Wirkungs-Beziehung ermöglicht und leitete daher auf Grundlage dieser Studie einen neuen BMDL₁₀ in Höhe von 237 µg/kg KG ab. Die sich beim BMDL₁₀ ergebenden Unterschiede resultieren vermutlich primär aus der begrenzten Qualität der für die Modellierung genutzten Daten. So war insbesondere in der Studie mit Lasiocarpin eine hohe Rate an früher substanzbedingter Mortalität zu verzeichnen, welche die Dosis-Wirkungs-Beziehung der Tumorbefunde deutlich beeinflusst haben könnte (EFSA, 2017b). Das BfR hat die neue Bewertung der EFSA geprüft und kam dabei zu dem Schluss, dass der BMDL₁₀ in Höhe von 237 µg/kg KG eine bessere Interpretation der verfügbaren Daten darstellt und daher zukünftig als neuer Referenzpunkt für die Berechnung des MOE herangezogen werden sollte (BfR, 2018). Für die sich anschließende Risikobetrachtung in Form des MOE-Ansatzes werden die Gehaltsdaten der bestimmten 1,2-ungesättigten PA als Summe betrachtet und es wird aktuell weiterhin von einer Äquipotenz aller 1,2-ungesättigter PA hinsichtlich der kanzerogenen Wirkungen ausgegangen.

Woran kann man sich zur Charakterisierung nicht-kanzerogener Wirkungen orientieren?

Beim Menschen liegen Fallbeschreibungen von Vergiftungen nach beabsichtigter oder versehentlicher Aufnahme PA-haltigen Pflanzenmaterials vor. So ist aus zwei relativ gut dokumentierten Vergiftungsfällen bei Kindern bekannt, dass eine tägliche Aufnahmemenge von 1–3 mg/kg KG bereits nach wenigen Tagen zu schwersten Leberschäden führen oder letal verlaufen kann. Dieser Dosisbereich charakterisiert somit Aufnahmemengen, bei denen mit dem Auftreten schwerster oder sogar tödlicher Effekte gerechnet werden muss. Die Daten können jedoch nicht genutzt werden, um eine Aufnahmemenge abzuleiten, bei der Wirkungen nach kurzfristiger Aufnahme 1,2-ungesättigter PA nicht mehr zu erwarten sind, da keine belastbaren Erkenntnisse zur Dosis-Wirkungs-Beziehung vorliegen. Diese wären aber erforderlich, um einen hinreichend sicheren Abstand zwischen der Aufnahmemenge, bei der die schwerwiegende gesundheitliche Wirkung eintritt, und der sicheren Aufnahmemenge definieren zu können.

In verschiedenen Risikobewertungen wurde das Auftreten von Hepatozytenvergrößerungen, die in einer Studie zur chronischen Toxizität mit Riddelliin bei Ratten beobachtet wurde, als ein relevanter Endpunkt zur Beurteilung nicht-kanzerogener (nicht-neoplastischer) Effekte herangezogen. Aus den Befunden der Studie wurde für diesen Endpunkt eine Dosis von 10 µg/kg KG als höchste getestete Dosis, bei der keine (adverse/gesundheitsschädliche) Wirkung zu beobachten ist (*No-Observed-Adverse-Effect-Level*; NOAEL), ermittelt. Unter Berücksichtigung eines Extrapolationsfaktors von 100 zur Berücksichtigung von Inter- und Intraspeziesunterschieden, wurde eine Aufnahmemenge von 0,1 µg/kg

KG abgeleitet, bei deren Unterschreitung nicht-neoplastische Wirkungen durch 1,2-ungesättigte PA nicht mehr zu erwarten sind (COT, 2008; BfR, 2016b).

Dieser Wert kann in begründeten Einzelfällen hilfsweise zur Beurteilung nicht-kanzerogener Risiken herangezogen werden. Es sei aber an dieser Stelle betont, dass bei Einhaltung dieser Aufnahmemenge genotoxisch-kanzerogene Wirkungen durchaus möglich sind. Im Hinblick auf die Risikobewertung sind also stets die genotoxisch-kanzerogenen Wirkungen als der sensitivste Endpunkt bedeutsam.

Analytische Bestimmung von 1,2-ungesättigten PA in Lebensmitteln

Derzeit beraten die Europäische Kommission und die Mitgliedsstaaten über die Einführung von Höchstgehalten für das Vorkommen 1,2-ungesättigter PA in bestimmten Lebensmitteln, darunter in Tee- und Kräuterteeprodukten. Die diskutierten Höchstgehalte orientieren sich dabei an den gegenwärtig in Lebensmitteln vorkommenden Gehalten, die von EFSA publiziert wurden. Sie entsprechen dem 80. Perzentil der Rooibostee-, dem 90. Perzentil der Kräuterteedaten bzw. dem 98. Perzentil der Gehalte an 1,2-ungesättigten PA in Schwarzem und Grünem Tee.

Quantitative Bestimmung des Gesamtgehalts an 1,2-ungesättigten PA

Erste Methoden zum Nachweis von PA wurden bereits vor Jahrzehnten etabliert. Dabei fanden vor allem kolorimetrische Verfahren Anwendung, bei denen PA zur Visualisierung an ein Chromophor gekoppelt wurden. In Kombination mit der dünn-schichtchromatographischen Trennung und nachfolgender photometrischer Quantifizierung konnten schon in den 60-iger Jahren sehr differenzierte Aussagen zu den Hauptalkaloiden in Pflanzen getroffen werden (MATCOCKS, 1967). Die Spezifität und die erzielbaren Nachweisgrenzen erwiesen sich für die moderne Spurenanalytik aber als ungenügend. Für den Nachweis und die Quantifizierung 1,2-ungesättigter PA in Lebensmitteln sind daher selektivere und empfindlichere Methoden entwickelt worden.

Als Detektionssystem erreicht hier die Massenspektrometrie die höchste Spezifität und Sensitivität. Seit ihrer kommerziellen Einführung ist sie die Methodik der Wahl. Zur quantitativen Bestimmung des Gesamtgehalts an 1,2-ungesättigten PA in einer Lebensmittelprobe werden grundsätzlich die Summenparameter-Analytik und die *targeted*-Analytik als methodische Ansätze unterschieden.

Summenparameter-Analytik. Bei der Summenparameter-Analytik werden die einzelnen 1,2-ungesättigten PA in der Probe chemisch in den gemeinsamen Grundkörper überführt, welcher im Anschluss quantitativ bestimmt wird. Dazu müssen die als *N*-Oxide vorliegenden 1,2-ungesättigten PA zunächst durch Reduktion zu ihren korrespondierenden tertiären Basen reduziert werden. In der Regel

wird der beim Abbau entstehende Necinbasengrundkörper noch einer Derivatisierung unterzogen (KEMPF et al., 2008; CRAMER et al., 2013). Für die Quantifizierung wird ein isotoopenmarkiertes Retronecinderivat synthetisiert und als interner Standard zur Korrektur von Aufarbeitungsverlusten und Responseunterschieden bei der Ionisierung verwendet. PA des Otonecin-Typs können mit der Summenmethode nicht erfasst werden.

targeted-Analytik. Bei der *targeted*-Analytik werden die Gehalte einzelner Verbindungen bestimmt und nachfolgend summiert (Beschränkung aufgrund der verfügbaren Referenzstandards). Dabei findet seit Ende der 90-iger Jahre die Flüssigchromatographie in Kombination mit der Massenspektrometrie (LC-MS/MS) eine immer größere Verbreitung und ist derzeit das meistangewandte Verfahren in der Analytik von unerwünschten Stoffen in Lebensmitteln. Begünstigt ist dieser Trend insbesondere durch die Möglichkeit der Multikomponentenanalyse.

In der *targeted*-Analytik von 1,2-ungesättigten PA werden hauptsächlich Tandem-Massenspektrometer (auch Triple-Quadrupole-Massenspektrometer genannt) im *selected/multiple reaction monitoring* (SRM, MRM) Modus genutzt. Diese Art der Detektion zeichnet sich durch eine hohe Empfindlichkeit und eine sehr hohe Spezifität aus. Ein Nachteil dieser Methodik ist, dass nur die Verbindungen in die Quantifizierung (Summenbildung) einfließen, auf die gezielt untersucht wird, wobei prinzipiell für jeden Analyten eine Referenzsubstanz verfügbar sein muss.

Eine *targeted*-Methode, basierend auf einem Extraktionsschritt mit leicht schwefelsaurem Wasser, einer Anreicherung mittels Festphasenextraktion und anschließender Quantifizierung mittels LC-MS/MS, wurde in einem internationalen Ringversuch zur Bestimmung 1,2-ungesättigter PA in Honig und Pflanzenmaterial validiert (BfR, 2015). Ein sensibler Schritt bei massenspektrometrischen Verfahren ist die Quantifizierung, welche häufig durch sogenannte Matrixeffekte beeinflusst wird. Matrixeffekte sind eine Bezeichnung für die unterschiedliche Effizienz der Ionisierung eines in reinem Lösungsmittel vorliegenden Analyten im Vergleich zu einem, der in einem matrixreichen Extrakt aus dem zu untersuchenden Lebensmittel vorliegt. Der Einfluss der Matrix auf die Quantifizierung kann auf verschiedenen Wegen kompensiert werden. Derzeit werden für Analyten wie die 1,2-ungesättigten PA, für die keine isotoopenmarkierte Standards zur Verfügung stehen, drei Ansätze zur Kompensation dieser Matrixeffekte genutzt: die Standardaddition, die externe Kalibration über *matrix matched standards* oder die Matrixverdünnung.

Beim Standardadditionsverfahren werden einer Probe Aliquote mit definiert zunehmenden Konzentrationslevel an PA versetzt und diese dann analysiert. Dieses Verfahren liefert sehr valide Ergebnisse, erfordert aber einen hohen Messaufwand und führt zu einem hohen Verbrauch von Standards.

In der Methodenvalidierungsstudie wurde das Verfahren der externen Kalibration mittels einer sogenannten *matrix matched calibration* verwendet (BfR, 2015). Gene-

rell wird hier eine PA-freie Blankprobe mit denselben Analyseschritten aufgearbeitet wie die Proben und der so erhaltene Matrix-Blank wird dann anstelle eines Lösungsmittels zur Erstellung der Kalibriergeraden verwendet. Grundvoraussetzung und die größte Schwierigkeit bei solchen Verfahren ist, dass dem Labor passendes Blankmaterial zur Verfügung steht, das wirklich geeignet ist, auftretende Matrixeffekte zu kompensieren.

Das derzeit gängigste und einfachste Verfahren ist das sogenannte Verdünnen der Matrix. Hierbei wird eine Probe in so hohem Maße verdünnt, bis keine Matrixeffekte mehr auftreten und die Quantifizierung der Proben, unabhängig von der zu untersuchenden Matrix, gegen eine externe Kalibration in Lösemittel erfolgt. Dieses Vorgehen wird durch die enorm gesteigerte Sensitivität der Massenspektrometer ermöglicht.

Analytauswahl zur Bestimmung des „Gesamtgehalts“ an 1,2-ungesättigten PA. Mit Hilfe der im Rahmen der Lebensmittelüberwachung eingesetzten *targeted*-Analytik ist es derzeit nicht möglich, den Gesamtgehalt an 1,2-ungesättigten PA als Summe aller vorkommenden Einzelverbindungen zu bestimmen. Vielmehr fließen nur die Verbindungen in die Quantifizierung ein, auf die gezielt untersucht wird.

Zur Sicherstellung eines einheitlichen Vollzugs bei der Überwachung von Höchstgehalten ist es daher entscheidend, sich auf ein einheitliches Spektrum von Analyten festzulegen, um die Vergleichbarkeit der Befunde der Gehaltsbestimmungen verschiedener Untersuchungseinrichtungen zu ermöglichen. Das heißt, der zu überwachende Höchstgehalt an 1,2-ungesättigten PA muss die Summe der Einzelgehalte einer klar definierten Analyt-Auswahl abbilden. Gemäß Vorschlag des BfR sollten die in Tab. 1 dargestellten 21 1,2-ungesättigten PA zur Summenbildung herangezogen werden. Zwar wird in der Natur eine weitaus höhere Zahl an 1,2-ungesättigten PA gebildet, jedoch wird der Gesamt-PA-Gehalt in den jeweiligen Pflanzenarten durch einige wenige Hauptverbindungen („Markersubstanzen“) repräsentiert. Dies spiegelt sich auch im Kontaminationsprofil von Lebensmitteln wider. Als die Problematik der PA-Kontamination in Lebensmitteln in den Fokus der Überwachung rückte, umfassten die Methoden noch 28 Analyten. Auswertungen der Gehaltsdaten vieler Proben zeigten, dass bestimmte 1,2-ungesättigte PA nicht in quantitativ relevanten Mengen vorkommen, sodass die Methoden auf 21 Analyten reduziert wurden. Nach dem derzeitigen Stand des Wissens repräsentiert die empfohlene Analytauswahl (Tab. 1) die wichtigsten Markersubstanzen in PA-bildenden Pflanzen und eine Erweiterung der Methode auf zusätzliche PA-Verbindungen würde den analytischen Aufwand, nicht aber den quantifizierten „Gesamtgehalt“ an 1,2-ungesättigten PA signifikant erhöhen. Eine Sondersituation ergibt sich für bestimmte Stereoisomeren.

Vorkommen von Stereoisomeren. Häufig besitzen Naturstoffe, wie die PA, in ihrem strukturellen Aufbau sogenannte Stereozentren, an denen sich die räumliche

Tab. 1. Derzeit vom BfR vorgeschlagene Analytauswahl zur Überwachung der diskutierten Höchstgehalte für das Vorkommen von 1,2-ungesättigten PA in Lebensmitteln (Summe der Einzelgehalte) (BfR, 2016a).

PA	Art der Esterform	Necinbase	Natürliche Isomere
Echimidin	Offenkettiger Diester	Retronecin	Heliosupin
Echimidin- <i>N</i> -oxid	Offenkettiger Diester	Retronecin	Heliosupin-NO
Europin	Monoester	Heliotridin	
Europin- <i>N</i> -oxid	Monoester	Heliotridin	
Heliotrin	Monoester	Heliotridin	
Heliotrin- <i>N</i> -oxid	Monoester	Heliotridin	
Intermedin	Monoester	Retronecin	Lycopsamin, Indicin, Echinatin, Rinderin
Intermedine- <i>N</i> -oxid	Monoester	Retronecin	Lycopsamin-NO, Indicin-NO, Echinatin-NO, Rinderin-NO
Lycopsamin	Monoester	Retronecin	Intermedin, Indicin, Echinatin, Rinderin
Lycopsamin- <i>N</i> -oxid	Monoester	Retronecin	Intermedin-NO, Indicin-NO, Echinatin-NO, Rinderin-NO
Lasiocarpin	Offenkettiger Diester	Heliotridin	
Lasiocarpin- <i>N</i> -oxid	Offenkettiger Diester	Heliotridin	
Retrorsin	Zyklischer Diester	Retronecin	Usaramin
Retrorsin- <i>N</i> -oxid	Zyklischer Diester	Retronecin	Usaramin-NO
Senecionin	Zyklischer Diester	Retronecin	Senecivernin, Integerrimin
Senecionin- <i>N</i> -oxid	Zyklischer Diester	Retronecin	Senecivernin-NO, Integerrimin-NO
Senecivernin	Zyklischer Diester	Retronecin	Senecionin, Integerrimin
Senecivernin- <i>N</i> -oxid	Zyklischer Diester	Retronecin	Senecionin-NO, Integerrimin-NO
Seneciphyllin	Zyklischer Diester	Retronecin	Spartioidin
Seneciphyllin- <i>N</i> -oxid	Zyklischer Diester	Retronecin	Spartioidin-NO
Senkirkin	Zyklischer Diester	Otonecin	

Anordnung der Atome unterscheidet. Es liegen dann zwei in der räumlichen Ausprägung unterschiedliche Verbindungen vor, die stereoisomer zueinander sind. Mittels LC-MS/MS sind diese Isomere kaum zu unterscheiden, da sie ähnliche chromatographische Retentionszeiten haben (Co-Elution) und im Massenspektrometer dieselben Precursor- und Produkt-Ionen bilden, die sich häufig auch in der Intensitätsverteilung ähneln. Mit den derzeit angewandten Verfahren sind die Isomere nur schwer zu unterscheiden und Aussagen über das genaue Isomerenmuster in einer Probe können nicht eindeutig getroffen werden.

Durch die hohe Biodiversität der PA-bildenden Pflanzen ist auch die Vielfalt an gebildeten strukturell verwandten PA hoch. Für einige Verbindungen wird in der Natur auch eine hohe Anzahl an Isomeren gebildet. Dies soll am Beispiel der Intermedingruppe in Abb. 3 erläutert werden. Die hier gezeigte PA-Struktur besitzt vier Kohlenstoffatome an denen Stereozentren vorliegen können, sodass theoretisch das Vorkommen von 16 verschiedenen Isomeren möglich wäre. In der Literatur wurden bisher fünf Isomere beschrieben. Sowohl die Pflanzenfamilie der *Asteraceae* (vornehmlich Gattung *Eupatorium*) als auch die der *Boraginaceae* (fast alle Gattungen) ist in der Lage diese Isomeren zu bilden, was für die Überwachung von PA-Kontaminationen in Lebensmitteln bedeutet, dass alle fünf dieser Isomere von Relevanz sind. Das derzeit empfohlene Analytspektrum basiert in erster Linie auf Standards, die zum Zeitpunkt der Etablierung der Metho-

den verfügbar waren. Bezogen auf die in Abb. 3 dargestellten Verbindungen waren das Lycopsamin und Intermedin. Im Allgemeinen wurden etablierte Methoden nicht mehr um Standards erweitert, die zu einem späteren Zeitpunkt verfügbar wurden. Dies liegt daran, dass man die Vergleichbarkeit von alten und neuen PA-Gehaltsdaten in untersuchten Lebensmitteln und deren Änderungen über die Zeit erzielen wollte. Pragmatisch kann dies durch die Festlegung auf ein abgestimmtes Analytspektrum, das keinen Änderungen unterliegt, gewährleistet werden.

Für bisher analysierte Gehaltsdaten bedeutet das aber, dass beispielsweise Proben, die mit *Eupatorium* kontaminiert waren, zwar hohe Anteile an Echinatin und Rinderin enthielten, diese aber als Lycopsamin und Intermedin berichtet wurden. In der Wahrnehmung und Bewertung der Häufigkeit einzelner PA-Verbindungen drückt sich dies dann so aus, dass Lycopsamin und Intermedin häufig reportiert werden, ihre Isomere aber nicht. Aus den hier dargelegten Gründen wäre für die Festlegung des Analytspektrum zur Überwachung des PA Gehaltes der pragmatischste Ansatz, die bisher ausgewählten Analyten aus Tab. 1 beizubehalten und zusätzlich die Isomere im Analytspektrum mit einzubeziehen. Dieses erweiterte Analytspektrum entspräche der bisher angewandten analytischen Praxis und würde die Vergleichbarkeit bisher erzeugter Gehaltsdaten garantieren. Außerdem wäre es der praktikabelste Weg, einen einheitlichen Vollzug in der Überwachung zu gewährleisten, da im Falle von

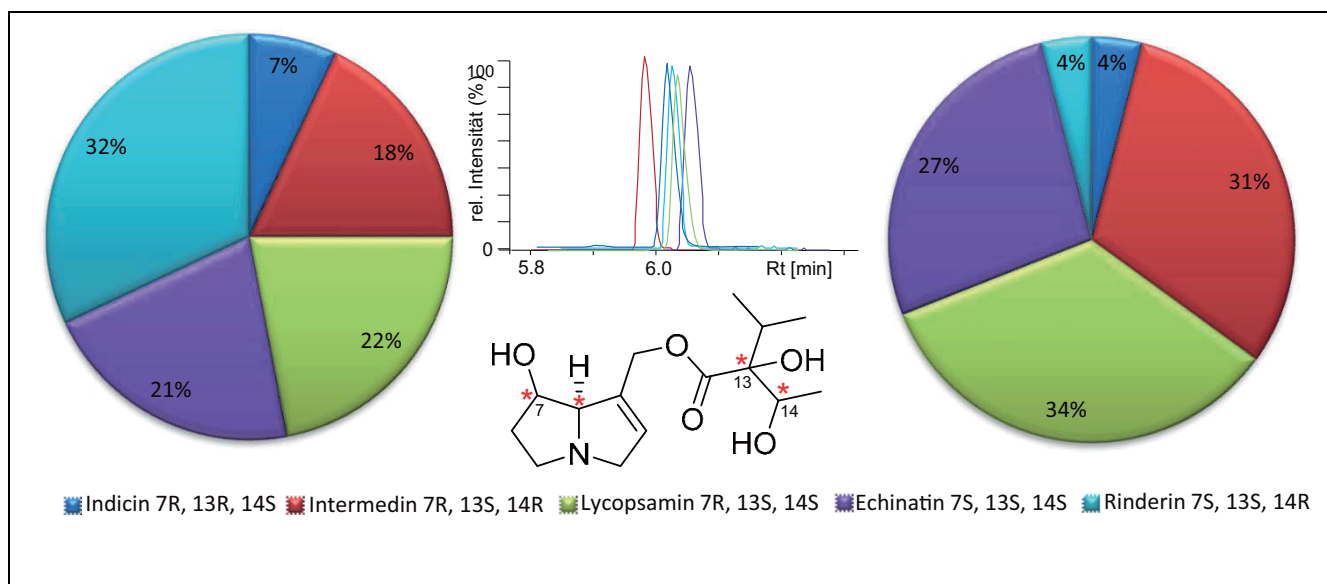


Abb. 3. Natürlich gebildete Isomere der Intermedin-Gruppe, ihr Elutionsverhalten bei *reversed phase*-Chromatographie sowie die Verteilung der einzelnen Isomeren in der Familie der *Asteraceae* (links) und *Boraginaceae* (rechts) (HARTMANN UND WITTE, 1995; DUBECKE et al., 2011).

Höchstgehaltsüberschreitungen die Labore nicht mit viel Aufwand und möglicherweise anfechtbarem Ergebnis die Abwesenheit von nicht im Analyspektrum benannten Isomeren beweisen müssen.

Exposition gegenüber 1,2-ungesättigten PA über Tee und Kräutertee

Datengrundlage für die Expositionsschätzung

Als Datengrundlage hinsichtlich des Verzehrs bei Jugendlichen und Erwachsenen diente die Nationale Verzehrsstudie II (NVS II) des Max Rubner-Institutes (MRI). Die NVS II ist die aktuelle, repräsentative Studie zum Verzehr der deutschen Bevölkerung. Die Studie, bei der etwa 20.000 Personen im Alter zwischen 14 und 80 Jahren mittels drei verschiedener Erhebungsmethoden (Dietary History, 24h-Recall und Wiegeprotokoll) zu ihrem Ernährungsverhalten befragt wurden, fand zwischen 2005 und 2006 in ganz Deutschland statt (KREMS et al., 2006; MRI, 2008). Die im Rahmen des vorliegenden Übersichtsartikels durchgeführten Verzehrsauswertungen beruhen auf den Daten der beiden unabhängigen 24h-Recalls der NVS II, die in einem computergestützten Interview mittels „EPIC-SOFT“ erhoben wurden. Es wurden die Daten von 13.926 Personen, von denen beide Interviews vorlagen, ausgewertet. Aufgrund des Vorliegens von Verzehrangaben zu einzelnen Tagen ist die Methode der 24h-Recalls sowohl für Expositionsschätzungen bei akuten als auch bei chronischen Risiken geeignet. Für die Aufnahmeschätzungen wurden die individuellen Körpergewichte der Befragten zugrunde gelegt. Für die vorliegende Expositionsschätzung wurden der kurzfristige (akute) und der langfristige (chronische) Verzehr der in Tab. 2 aufgeführten Tees betrachtet. In den Daten der NVS II der 24h-Recalls wurde der Verzehr von Brennnes-

seltee, Fencheltee, Kamillentee und Pfefferminztee nicht explizit genannt, wobei die Vermutung nahe liegt, dass die Verzehrsmengen dieser Teesorten in denen von Kräutertee (nns) enthalten sind. Grundlage für die Expositionsschätzung waren demnach Verzehrdaten für Früchtetee, Grünen Tee, Kräutertee (nns), Rooibostee und Schwarzen Tee, die mit den Gehaltsdaten von Früchtetee, Grünem Tee, Kräutertee (nns), Rooibostee bzw. Schwarzem Tee verknüpft wurden.

Als Datengrundlage zum Verzehr für Kinder unter 5 Jahren wurden Verzehrdaten aus der VELS-Studie (Verzehrsstudie zur Ermittlung der Lebensmittelaufnahme von Säuglingen und Kleinkindern für die Schätzung eines akuten Toxizitätsrisikos durch Rückstände von Pflanzenschutzmitteln) herangezogen (HESEKER et al., 2003; BANASIAK et al., 2005). Die Studie wurde zwischen 2001 und 2002 an 816 Säuglingen und Kleinkindern im Alter zwischen 6 Monaten bis unter 5 Jahren in ganz Deutschland durchgeführt. Die Eltern führten für jedes Kind zwei 3-Tage-Ernährungsprotokolle über alle verzehrten Lebensmittel. Aufgrund des Vorliegens von Verzehrangaben zu einzelnen Tagen sind die zweimal 3-Tage-Ernährungsprotokolle sowohl für Expositionsschätzungen bei akuten als auch bei chronischen Risiken geeignet, wobei die Nutzung von wenigen Einzeltagesmessungen für die Berechnung einer lebenslangen Aufnahme mit Unsicherheiten verbunden ist, die insbesondere bei Aussagen zu detaillierten Lebensmittelgruppen oder bei Schätzungen mit einem hohen Prozentsatz Nichtverzehrer zu beachten sind. Bei der Auswertung wurde der kurzfristige (akute) und langfristige (chronische) Verzehr der Kinder, die nicht mehr gestillt wurden, betrachtet. Als Grundlage für die Expositionsschätzung standen Gehaltsdaten für Fencheltee, Früchtetee, Grünen Tee, Kamillentee, Kräutertee (nns), Pfefferminztee und Rooibostee zur Verfügung. Aufgrund der wenigen Verzehrer von Brennnesseltee wurden

Tab. 2. Gehalte an 1,2-ungesättigten PA in Tees in µg/kg nach modifiziertem lower bound-Ansatz.

	N ¹	< NWG ² (%)	Mittelwert	Median	95. Perzentil
Brennnesseltee	5	0	68,00	42,40	228,45
Fencheltee	71	59	2,83	0	15,27
Früchtete	22	77	0,42	0	1,74
Grüner Tee	78	63	9,79	0	61,20
Kamillentee	22	23	36,95	24,49	119,84
Kräuterte (nns ³)	135	21	143,96	18,50	535,27
Pfefferminztee	58	57	21,53	0	184,79
Rooibostee	93	8	98,90	38,00	476,40
Schwarzer Tee	76	42	15,69	1,00	80,80

¹Anzahl, ²Nachweisgrenze; ³nicht näher spezifiziert

diese mit den Verzehrern von Kräuterte (nns) zusammengefasst und bei der Expositionsschätzung mit den Gehaltsdaten von Kräuterte (nns) verknüpft.

Wie hoch sind die Gehalte an 1,2-ungesättigten PA in Tees?

Für den hier vorliegenden Artikel wurden Gehaltsdaten ausgewertet, die durch die für die Lebensmittelüberwachung zuständigen Behörden der deutschen Bundesländer im Zeitraum 2015 bis 2018 erhoben worden sind.

Die Messwerte für die Einzelanalyten unter der Bestimmungsgrenze und Nachweisgrenze (NWG) wurden mittels des modifizierten *lower bound*-Ansatzes angepasst. Dabei wurden jene Messwerte unter der NWG auf null und die unter der Bestimmungsgrenze auf die NWG gesetzt. Für die Summenbildung werden gemäß der oben genannten Empfehlung des BfR die Analysenergebnisse von 21 spezifischen Einzelanalyten (Tab. 1) addiert, wobei einige der Einzelanalyten bereits die Summe aus mehreren Isomeren darstellen, wie im Kapitel zur Analytik beschrieben. Die höchsten mittleren Gehalte an 1,2-ungesättigten PA wurden in Kräuterte (nns), Rooibostee und Brennnesseltee beobachtet (Tab. 2).

Um das gesundheitliche Risiko, das von der Aufnahme von mit 1,2-ungesättigten PA kontaminiertem Tee ausgeht zu beurteilen, wurde eine Expositionsschätzung entsprechend dem bei Sarvan et. al (SARVAN et al., 2017) beschriebenen Vorgehen durchgeführt.

Welche kurzfristige (akute) Exposition kann aus den Gehalten geschätzt werden?

Für die Schätzung der kurzfristigen Aufnahme 1,2-ungesättigter PA wird das 95. Perzentil der über den Befragungszeitraum individuellen höchsten Verzehrsmenge der Teeverzehrern an einem einzelnen Tag zugrunde gelegt. Diese wird mit dem 95. Perzentil der Gehalte des entsprechenden Lebensmittels multipliziert. Bei den Berechnungen wurde davon ausgegangen, dass 200 ml Teeaufguss einer Trockenmasse von 2 g entsprechen. In den Tab. 3–4 ist die kurzfristige Aufnahme 1,2-ungesättigter PA für

Kinder bzw. Erwachsene durch den Verzehr der betrachteten Tees dargestellt.

Für alle betrachteten Tees liegt die kurzfristige Aufnahme bei Kindern und Erwachsenen (nur Verzehrer) unterhalb von 0,3 µg/kg KG und Tag (Tab. 3–4). Die höchste kurzfristige Aufnahme an PA haben Kinder über Kräuterte (nns) (0,214 µg/kg KG und Tag) gefolgt von Rooibostee (0,132 µg/kg KG und Tag). Erwachsene haben ebenfalls durch den Verzehr von Kräuterte (nns) mit 0,144 µg/kg KG und Tag sowie Rooibostee (0,125 µg/kg KG und Tag) die höchste kurzfristige Aufnahme an 1,2-ungesättigten PA.

Tab. 3. Kurzfristige Aufnahme 1,2-ungesättigter PA bei Kindern (0,5 bis unter 5 Jahre).

	Kurzfristige Aufnahme [µg/kg KG und Tag] (nur Verzehrer)
Fencheltee	0,010
Früchtete	0,001
Grüner Tee	0,013
Kamillentee	0,077
Kräuterte (nns)	0,214
Pfefferminztee	0,063
Rooibostee	0,132

Tab. 4. Kurzfristige Aufnahme 1,2-ungesättigter PA bei Erwachsenen (Jugendliche und Erwachsene 14 bis 80 Jahre).

	Kurzfristige Aufnahme [µg/kg KG und Tag] (nur Verzehrer)
Früchtete	< 0,0005
Grüner Tee	0,015
Kräuterte (nns)	0,144
Rooibostee	0,125
Schwarzer Tee	0,016

Welche langfristige (chronische) Exposition kann aus den Gehalten geschätzt werden?

Für die Schätzung der langfristigen Exposition wurden die mittleren Gehalte mit den Verzehrsmengen von Kindern und Erwachsenen für alle Probanden auf individueller Ebene verknüpft, wobei der Median sowie das 95. Perzentil der resultierenden Aufnahme für jede Teesorte betrachtet wurde. Ebenfalls wurde angenommen, dass 200 ml Teeaufguss einer Trockenmasse von 2 g entsprechen. Mittlere Gehalte wurden verwendet, um dem Faktor Rechnung zu tragen, dass mal höher und mal niedriger belastete Sorten der betrachteten Tees verzehrt werden. Der Median der Aufnahme bildet den Normalverzehrer und das 95. Perzentil den Vielverzehrer ab.

Die Aufnahmemengen von PA für Kinder sind in Tab. 5 und für Erwachsene in Tab. 6 auf Basis aller Befragter (95. Perzentil) sowie auf Basis der Verzehrer (Median und 95. Perzentil) für die verschiedenen Tees aufgeführt. Die Anteile von Verzehrern an der Gesamtanzahl der Befragten variieren stark sowohl zwischen den einzelnen Teesorten als z. T. auch zwischen Kindern und Erwachsenen.

Schätzung der Aufnahme 1,2-ungesättigter PA über einzelne Tees. Der Anteil der Verzehrer der einzelnen Tees bei den Kindern liegt zwischen 1% für Grünen Tee und

37% für Früchtetee. Daraus resultiert ein Median von null bei der Betrachtung aller Befragter, weshalb dieser in Tab. 5 nicht als extra Spalte dargestellt ist. Die Aufnahmemengen für Kinder (nur Verzehrer) in der Tab. 5 zeigen, dass Kräutertee (nns) und Rooibostee bei Verzehrern des jeweiligen Tees zur höchsten Aufnahme 1,2-ungesättigter PA führen. Die Verzehreranteile der genannten Gruppen liegen dabei bei 9% bzw. 4%.

Für die Erwachsenen der NVS II kann ein Anteil der Verzehrer zwischen 4% für Rooibostee und 22% für Kräutertee (nns) verzeichnet werden. Dies resultiert ebenfalls wie bei den Kindern in einem Median von null bei der Betrachtung aller Befragter, weshalb dieser in Tab. 6 nicht als extra Spalte dargestellt ist.

Bei der Betrachtung der Aufnahme über die einzelnen Tees für Erwachsene (nur Verzehrer) führen Kräutertee (nns) und Rooibostee zur höchsten langfristigen Aufnahme 1,2-ungesättigter PA (Tab. 6). Die Verzehreranteile der genannten Lebensmittelgruppen liegen bei 22% bzw. 4%.

Schätzung der Gesamtaufnahme an 1,2-ungesättigten PA über Tee auf Basis der Verzehrer einzelner Teesorten. Werden nur die Verzehrer von Tee betrachtet, wird sichtbar, dass die Anteile an der Gesamtheit der Befragten stark variieren. Würde die Gesamtaufnahme über

Tab. 5. Mittlere Aufnahme (Monatsmittel) 1,2-ungesättigter PA über Tees bei Kindern (0,5 bis unter 5 Jahre).

Lebensmittelgruppe	Anteil Verzehrer [%]	Alle Befragte		
		95. Perzentil ¹ [µg/kg KG und Tag]	Normalverzehrer [µg/kg KG und Tag]	Vielverzehrer [µg/kg KG und Tag]
Fencheltee	16	< 0,0005	< 0,0005	0,001
Früchtetee	37	< 0,0005	< 0,0005	< 0,0005
Grüner Tee	1	0	< 0,0005	< 0,0005
Kamillentee	4	0	0,001	0,008
Kräutertee (nns)	9	0,004	0,005	0,026
Pfefferminztee	9	< 0,0005	< 0,0005	0,003
Rooibostee	4	0	0,002	0,013

¹95. Perzentil = 0, wenn Anteil Verzehrer < 5%

Tab. 6. Mittlere Aufnahme 1,2-ungesättigter PA über Tees bei Jugendlichen und Erwachsenen (14 bis 80 Jahre).

Lebensmittelgruppe	Anteil Verzehrer [%]	Alle Befragte		
		95. Perzentil ¹ [µg/kg KG und Tag]	Normalverzehrer [µg/kg KG und Tag]	Vielverzehrer [µg/kg KG und Tag]
Früchtetee	10	< 0,0005	< 0,0005	< 0,0005
Grüner Tee	6	< 0,0005	< 0,0005	0,002
Kräutertee (nns)	22	0,013	0,006	0,027
Rooibostee	4	0	0,004	0,015
Schwarzer Tee	13	0,001	0,001	0,002

¹95. Perzentil = 0, wenn Anteil Verzehrer < 5%

Tee so berechnet werden, dass als Verzehrer die Personen anzusehen sind, die irgendeinen der genannten Tees verzehren, würden Tees mit einem hohen Verzehreranteil aber niedrigen Gehalten an 1,2-ungesättigten PA zu einer Unterschätzung der Aufnahme für Verzehrer von Tees mit hohen Gehalten bei vergleichsweise geringem Verzehreranteil führen. Weiterhin ist dies problematisch, weil die Verzehreranteile in Verzehrsstudien mit wenigen Tagen systematisch unterschätzt werden. Deshalb wurden in zwei Szenarien die Verzehrer von Tee mit den höchsten Aufnahmewerten als Grundgesamtheit gewählt und für diese die Gesamtaufnahme über ihren Teeverzehr ermittelt.

Für Kinder und Erwachsene ergeben sich zwei Szenarien mit der Grundgesamtheit Verzehrer von Kräutertee (nns) bzw. Rooibostee (Tab. 7). Für die genannten Verzehrergruppen sind die jeweiligen Gesamtaufnahmen an 1,2-ungesättigten PA über Tee ermittelt worden. Der sich ergebende Median und das 95. Perzentil der resultierenden Gesamtaufnahme über Tee wurde betrachtet und dem BMDL₁₀ (237 µg/kg KG und Tag) gegenübergestellt, um den MOE zu ermitteln (vgl. obige Ausführungen zum MOE-Konzept).

Verzehrer von Kräutertee (nns) weisen die höchste Gesamtaufnahme an 1,2-ungesättigten PA über Tee auf (Tab. 7). Die MOE-Werte liegen für Kinder bei 87.840 und 43.841 (Median) sowie 16.486 und 9.084 (95. Perzentil) für Rooibos- bzw. Kräutertee (nns). Für Erwachsene liegen die MOE-Werte bei 39.673 und 34.901 (Median) sowie 9.181 und 8.467 (95. Perzentil) für Rooibos- bzw. Kräutertee (nns).

Tendenziell sind die sich ergebenden MOE-Werte ähnlich, d. h. die Gesamtaufnahme an 1,2-ungesättigten PA unterscheidet sich bei Vorlieben für unterschiedliche Teesorten nicht.

Bei der vorliegenden Schätzung der Exposition wurde eine Reihe von Unsicherheiten berücksichtigt, die im Rahmen dieses Artikels nicht im Detail ausgeführt werden können. Der interessierte Leser wird daher auf die

Stellungnahmen des BfR verwiesen, in denen diese ausführlich dargestellt werden.

Fazit

Verunreinigungen mit 1,2-ungesättigten PA wurden in allen im Rahmen dieses Übersichtsartikels betrachteten Teesorten beobachtet (Erhebungszeitraum der Gehaltsdaten: 2015–2018). Dabei ist allerdings festzustellen, dass die Gehalte in den verschiedenen Teesorten und damit auch die Exposition im Vergleich zu den in der Stellungnahme des BfR aus dem Jahr 2016 veröffentlichten Befunden (Erhebungszeitraum der Gehaltsdaten: 2011–2015) deutlich gesunken ist. Dies zeigt, dass sich hohe Belastungen mit 1,2-ungesättigten PA durch Risikomanagementmaßnahmen und Qualitätssicherungsmaßnahmen seitens der Wirtschaftsbeteiligten vermeiden lassen.

Im Hinblick auf die chronische Exposition gegenüber 1,2-ungesättigten PA über Tee und Kräutertee zeigen die Ergebnisse der durchgeführten Expositionsschätzung, dass der Verzehr der „Sorten“ Kräutertee (nns) und Rooibostee zu einer relevanten Exposition führen kann. Schätzungen, bei denen Verzehrer von Kräutertee bzw. Rooibostee als Basis genommen, aber auch andere Teesorten anteilig in die Expositionsschätzung miteinbezogen wurden, zeigen, dass der MOE bei mittleren Verzehrsgewohnheiten sowohl bei Kindern als auch bei Erwachsenen erfreulicherweise bei deutlich über 10.000 liegt. Bei Kindern, die einen hohen Verzehr von Kräutertee (nns) haben, sinkt der MOE allerdings auf einen Wert von rund 9.100. Bei Erwachsenen Vielverzhern ergeben sich sowohl auf Basis der Verzehrer von Kräutertee (nns) als auch von Rooibostee MOE-Werte von kleiner 10.000 (ca. 8.500 bzw. 9.200). Für Verbindungen mit genotoxisch-karzinogenem Wirkmechanismus wird ein MOE von 10.000 oder größer mit Blick auf die öffentliche Gesundheit prinzipiell als wenig bedenklich – allerdings nicht

Tab. 7. Mittlere Gesamtaufnahme (Monatsmittel) 1,2-ungesättigter PA über die betrachteten Tees bei Kindern und Erwachsenen (Basis: nur Verzehrer einer Teesorte).

Basis		Kinder ¹		Erwachsene	
		Gesamtaufnahme [µg/kg KG]	MOE ²	Gesamtaufnahme [µg/kg KG]	MOE ²
Verzehrer von Kräutertee (nns)	Verzehrer (%)	9		22	
	Median	0,005	43.841	0,007	34.901
	95. Perzentil	0,026	9.084	0,028	8.467
Verzehrer von Rooibostee	Verzehrer (%)	4		4	
	Median	0,003	87.840	0,006	39.673
	95. Perzentil	0,014	16.486	0,026	9.181

¹10,5 bis unter 5 Jahre; ²Toxikologischer Referenzpunkt BMDL₁₀ = 237 µg/kg KG (EFSA, 2017b), Berechnung aus tatsächlicher Aufnahme (nicht gerundet)

unbedenklich! – angesehen und daher als niedrige Priorität für Maßnahmen des Risikomanagements erachtet.

Dabei sollte auch beachtet werden, dass im Rahmen dieses Artikels ausschließlich die Exposition über Tee und Kräutertee betrachtet wurde. Weitere mit 1,2-ungesättigten PA belastete Lebensmittel – z.B. Honig, NEM und Kräuter – können die Exposition erhöhen und zu entsprechend niedrigeren MOE-Werten führen. Die Gesamtaufnahme von 1,2-ungesättigten PA sollte für Verbraucherinnen und Verbraucher so gering wie möglich sein. Dazu sollten die Gehalte in Lebensmitteln gemäß dem ALARA-Prinzip (*as low as reasonably achievable*) so weit wie möglich gesenkt werden.

Interessenskonflikte


Die Autoren erklären, dass keine Interessenskonflikte vorliegen.

Literatur


- ALLEMANG, A., C. MAHONY, C. LESTER, S. PFUHLER, 2018: Relative potency of fifteen pyrrolizidine alkaloids to induce DNA damage as measured by micronucleus induction in HepaRG human liver cells. *Food Chemistry and Toxicology* **121**, 72–81, DOI: 10.1016/j.fct.2018.08.003.
- ALLGAIER, C., S. FRANZ, 2015: Risk assessment on the use of herbal medicinal products containing pyrrolizidine alkaloids. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* **73** (2), 494–500, DOI: 10.1016/j.yrtph.2015.09.024.
- BANASIAK, U., H. HESEKER, C. SIEKE, C. SOMMERFELD, C. VOHMANN, 2005: Abschätzung der Aufnahme von Pflanzenschutzmittel-Rückständen in der Nahrung mit neuen Verzehrsmengen für Kinder. *Bundesgesundheitsblatt – Gesundheitsforschung – Gesundheitsschutz* **48** (1), 84–89.
- BfR, Bundesinstitut Für Risikobewertung, 2016a: Vorläufige Empfehlungen des BfR zur Analytik von Pyrrolizidinalkaloiden (PA) in Kräutertee und Tee (Analytisches Profil und Probenahmeverfahren). Mitteilung Nr. 002/2016 des BfR vom 05. Januar 2016.
- BfR, Bundesinstitut Für Risikobewertung, 2013: Pyrrolizidinalkaloide in Kräutertees und Tees. Stellungnahme 018/2013 des BfR vom 5. Juli 2013.
- BfR, Bundesinstitut Für Risikobewertung, 2015: International collaborative study for the determination of pyrrolizidine alkaloids in honey and herbal tea by SPE-LC-MS/MS. BfR-Wissenschaft 01/2015, <http://www.bfr.bund.de/cm/350/international-collaborative-study-for-the-determination-of-pyrrolizidine-alkaloids-in-honey-and-herbal-tea-by-spe-lc-ms-ms.pdf>.
- BfR, Bundesinstitut Für Risikobewertung, 2016b: Pyrrolizidinalkaloide: Gehalte in Lebensmitteln sollen nach wie vor so weit wie möglich gesenkt werden. Stellungnahme Nr. 030/2016 des BfR vom 28. September 2016.
- BfR, Bundesinstitut Für Risikobewertung, 2018: Aktualisierte Risikobewertung zu Gehalten an 1,2-ungesättigten Pyrrolizidinalkaloiden (PA) in Lebensmitteln. Stellungnahme Nr. 020/2018 des BfR vom 14. Juni 2018.
- CHEN, L., P.P.J. MULDER, J. LOUISE, A. PELNENBURG, S. WESSELING, I.M.C.M. RIETJENS, 2017: Risk assessment for pyrrolizidine alkaloids detected in (herbal) teas and plant food supplements. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* **86**, 292–302.
- CHEN, M., L. LI, D. ZHONG, S. SHEN, J. ZHENG, X. CHEN, 2016: 9-Glutathionyl-6,7-dihydro-1-hydroxymethyl-5H-pyrrolizine Is the Major Pyrrolic Glutathione Conjugate of Retronecine-Type Pyrrolizidine Alkaloids in Liver Microsomes and in Rats. *Chemical Research in Toxicology* **29** (2), 180–189, DOI: 10.1021/acs.chemrestox.5b00427.
- CHEN, T., N. MEI, P.P. FU, 2010: Genotoxicity of pyrrolizidine alkaloids. *Journal of Applied Toxicology* **30** (3), 183–196.
- COT, Committee on Toxicity of Chemicals in Food, Consumer Products and the Environment, 2008: COT Statement on Pyrrolizidine Alkaloids in Food., COT Statement 2008/06 (October 2008).
- CRAMER, L., H.M. SCHIEBEL, L. ERNST, T. BEUERLE, 2013: Pyrrolizidine alkaloids in the food chain: development, validation, and application of a new HPLC-ESI-MS/MS sum parameter method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **61** (47), 11382–11391, DOI: 10.1021/jf403647u.
- DAI, N., Y.C. YU, T.H. REN, J.G. WU, Y. JIANG, L.G. SHEN, J. ZHANG, 2007: Gynura root induces hepatic veno-occlusive disease: a case report and review of the literature. *World Journal of Gastroenterology* **13** (10), 1628–1631, DOI: 10.3748/wjg.v13.i10.1628.
- DANNINGER, T., U. HAGEMANN, V. SCHMIDT, P.S. SCHÖNHÖFER, 1983: Zur Toxizität pyrrolizidinalkaloidhaltiger Arzneipflanzen. *Pharmazeutische Zeitung* **128** (6), 289–303.
- DUBECKE, A., G. BECKH, C. LULLMANN, 2011: Pyrrolizidine alkaloids in honey and bee pollen. *Additives & Contaminants. Part A, Chemistry, Analysis, Control, Exposure & Risk Assessment* **28** (3), 348–358, DOI: 10.1080/19440049.2010.541594.
- EDGAR, J.A., R.J. MOLYNEUX, S.M. COLEGATE, 2014: Pyrrolizidine alkaloids: potential role in the etiology of cancers, pulmonary hypertension, congenital anomalies, and liver disease. *Chemical Research in Toxicology* **28**, 4–20.
- EFSA, E.F.S.A.S.C., 2005: Opinion of the Scientific Committee on a request from EFSA related to a harmonised approach for risk assessment of substances which are both genotoxic and carcinogenic. Request No EFSA-Q-2004-020, adopted on 18 October 2005. *The EFSA Journal*, 282.
- EFSA, E.F.S.A.S.C., 2009: Use of the benchmark dose approach in risk assessment: Guidance of the Scientific Committee (Question No EFSA-Q-2005-232) Adopted on 26 May 2009. *EFSA Journal* **1150**, 1–72.
- EFSA, European Food Safety Authority, 2017a: Update: use of the benchmark dose approach in risk assessment. *EFSA Journal*, 15(1): 4658.
- EFSA, European Food Safety Authority, 2011: Scientific Opinion on Pyrrolizidine alkaloids in food and feed. *EFSA Journal*, 9(11): 2406.
- EFSA, European Food Safety Authority, 2017b: Risks for human health related to the presence of pyrrolizidine alkaloids in honey, tea, herbal infusions and food supplements. *EFSA Journal*, 15(7): 4908.
- FIELD, R.A., B.L. STEGELMEIER, S.M. COLEGATE, A.W. BROWN, B.T. GREEN, 2015: An in vitro comparison of the cytotoxic potential of selected dehydropyrrolizidine alkaloids and some N-oxides. *Toxicol* **97**, 36–45, DOI: 10.1016/j.toxicol.2015.02.001.
- FU, P.P., 2017: Pyrrolizidine alkaloids: Metabolic activation pathways leading to liver tumor initiation. *Chemical Research in Toxicology* **30** (1), 81–93, DOI: 10.1021/acs.chemrestox.6b00297.
- FU, P.P., Q. XIA, X. HE, S. BAREL, N. EDERY, F.A. BELAND, J.A. SHIMSHONI, 2017: Detection of Pyrrolizidine Alkaloid DNA Adducts in Livers of Cattle Poisoned with *Heliotropium europaeum*. *Chemical Research in Toxicology* **30** (3), 851–858, DOI: 10.1021/acs.chemrestox.6b00456.
- FU, P.P., Q. XIA, G. LIN, M.W. CHOU, 2004: Pyrrolizidine alkaloids – genotoxicity, metabolism enzymes, metabolic activation, and mechanisms. *Drug Metabolism Reviews* **36** (1), 1–55.
- GAO, H., J.Q. RUAN, J. CHEN, N. LI, C.Q. KE, Y. YE, G. LIN, J.Y. WANG, 2015: Blood pyrrole-protein adducts as a diagnostic and prognostic index in pyrrolizidine alkaloid-hepatic sinusoidal obstruction syndrome. *Drug Des Devel Ther* **9**, 4861–4868, DOI: 10.2147/dddt.S87858.
- HARTMANN, T., L. WITTE, 1995: Chapter 4: Chemistry, biology and chemoeology of pyrrolizidine alkaloids. In: *Alkaloids: Chemical and Biological Perspectives*. Ed. PELLETIER, S.W., Elsevier Science, Vol. 9, S. 155–233.
- HE, X., Q. XIA, K. WOODLING, G. LIN, P.P. FU, 2017: Pyrrolizidine alkaloid-derived DNA adducts are common toxicological biomarkers of pyrrolizidine alkaloid N-oxides. *Journal of Food and Drug Analysis* **25** (4), 984–991, DOI: 10.1016/j.jfda.2017.09.001.
- HESEKER, H., A. OEPPINING, C. VOHMANN, 2003: Verzehrstudie zur Ermittlung der Lebensmittelaufnahme von Säuglingen und Kleinkindern für die Abschätzung eines akuten Toxizitätsrisikos durch Rückstände von Pflanzenschutzmitteln (VELS). Forschungsbericht im Auftrag des Bundesministeriums für Verbraucherschutz, Ernährung und Landwirtschaft, Universität Paderborn.
- HONG, H.L., T.V. TON, T.R. DEVEREUX, C. MOOMAW, N. CLAYTON, P. CHAN, J.K. DUNNICK, R.C. SILLS, 2003: Chemical-specific alterations in ras, p53, and β -catenin genes in hemangiosarcomas from B6C3F1 mice exposed to o-nitrotoluene or riddelliine for 2 years. *Toxicology and Applied Pharmacology* **191** (3), 227–234, DOI: 10.1016/S0041-008X(03)00165-0.
- IARC, International Agency for Research on Cancer, 2019: List of Classifications. URL: <https://monographs.iarc.fr/list-of-classifications>.
- IARC, International Agency for Research on Cancer, 1976: IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risk of chemicals to man. Vol. 10: Some naturally occurring substances.

- IARC, International Agency for Research on Cancer, 1983: IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risk of chemicals to humans. Vol. 31: Some food additives, feed additives and naturally occurring substances.
- IARC, International Agency for Research on Cancer, 2002: IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Vol. 82: Some traditional herbal medicines, some mycotoxins, naphthalene and styrene.
- IPCS/INCHEM, WHO International Programme on Chemical Safety, 1988: Pyrrolizidine alkaloids. Environmental Health Criteria., 80.
- KAKAR, F., Z. AKBARIAN, T. LESLIE, M.L. MUSTAFA, J. WATSON, H.P. VAN EGMOND, M.F. OMAR, J. MOFLEH, 2010: An outbreak of hepatic veno-occlusive disease in Western Afghanistan associated with exposure to wheat flour contaminated with pyrrolizidine alkaloids. *Journal of Toxicology* **2010**, 1–7.
- KEMPF, M., T. BEUERLE, M. BUHRINGER, M. DENNER, D. TROST, K. VON DER OHE, V.B. BHAVANAM, P. SCHREIER, 2008: Pyrrolizidine alkaloids in honey: risk analysis by gas chromatography-mass spectrometry. *Molecular Nutrition and Food Research* **52** (10), 1193–1200, DOI: 10.1002/mnfr.200800051.
- KREMS, C., A. BAUCH, A. GÖTZ, T. HEUER, A. HILD, J. MÖSENER, C. BROMBACH, 2006: Methoden der Nationalen Verzehrsstudie II. *Ernährungs Umschau* **53** (2), 44–50.
- LIN, G., J.Y. WANG, N. LI, M. LI, H. GAO, Y. JI, F. ZHANG, H. WANG, Y. ZHOU, Y. YE, H.X. XU, J. ZHENG, 2011: Hepatic sinusoidal obstruction syndrome associated with consumption of *Gynura segetum*. *Journal of Hepatology* **54** (4), 666–673, DOI: 10.1016/j.jhep.2010.07.031.
- MA, J., Q. XIA, P.P. FU, G. LIN, 2018: Pyrrole-protein adducts – A biomarker of pyrrolizidine alkaloid-induced hepatotoxicity. *Journal of Food and Drug Analysis* **26** (3), 965–972, DOI: 10.1016/j.jfda.2018.05.005.
- MATTOCKS, A.R., 1967: Spectrophotometric determination of unsaturated pyrrolizidine alkaloids. *Analytical Chemistry* **39** (4), 443–447, DOI: 10.1021/ac60248a006.
- MATTOCKS, A.R., 1982: Hydrolysis and hepatotoxicity of retronecine diesters. *Toxicology Letters* **14** (1–2), 111–116.
- MERZ, K.-H., D. SCHRENK, 2016: Interim relative potency factors for the toxicological risk assessment of pyrrolizidine alkaloids in food and herbal medicines. *Toxicology Letters* **263**, 44–57.
- MOLYNEUX, R.J., D.L. GARDNER, S.M. COLEGATE, J.A. EDGAR, 2011: Pyrrolizidine alkaloid toxicity in livestock: a paradigm for human poisoning? *Additives & Contaminants. Part A, Chemistry, Analysis, Control, Exposure & Risk Assessment* **28** (3), 293–307, DOI: 10.1080/19440049.2010.547519.
- MOLYNEUX, R.J., A.E. JOHNSON, J.D. OLSEN, D.C. BAKER, 1991: Toxicity of pyrrolizidine alkaloids from Riddell groundsel (*Senecio riddellii*) to cattle. *American Journal of Veterinary Research* **52** (1), 146–151.
- MRI, M.R.-I.-B.f.e.u.L., 2008: Nationale Verzehrsstudie II (NVS II). Ergebnisbericht Teil 1 und 2.
- NCI, National Cancer Institute, 1978: Bioassay of lasiocarpine for possible carcinogenicity. *Carcinogenesis Technical Report Series*, 39 (NCI-CG-TR-39; DHEW Publication No. (NIH) 78–839).
- NING, J., L. CHEN, M. STRIKWOLD, J. LOUISSE, S. WESSELING, I. RIETJENS, 2019: Use of an in vitro-in silico testing strategy to predict interspecies and inter-ethnic human differences in liver toxicity of the pyrrolizidine alkaloids lasiocarpine and riddelliine. *Archives of Toxicology* **93** (3), 801–818, DOI: 10.1007/s00204-019-02397-7.
- NTP, National Toxicology Programme, 2003: NTP Technical Report on the toxicology and carcinogenesis studies of Riddelliine (CAS No. 23246-96-0) in F344/N rats and B6C3F1 mice (Gavage studies). NTP Technical Report Series, 508 (NIH Publication No. 03-4442).
- PANZIERA, W., S.P. PAVARINI, L. SONNE, C.S.L. BARROS, D. DRIEMEIER, 2018: Poisoning of cattle by *Senecio* spp. in Brazil: a review. *Pesquisa Veterinaria Brasileira* **38**, 1459–1470.
- PETZINGER, E., 2011a: Pyrrolizidinalkaloide und die Seneciose bei Tieren Teil 1: Vorkommen, Chemie, Toxikologie. *Tieraerztliche Praxis (Ausgabe Grosstiere)* **39** (4), 221–230.
- PETZINGER, E., 2011b: Pyrrolizidinalkaloide und die Seneciose bei Tieren Teil 2: Klinik, Speziesunterschiede, Rückstandsverhalten, Futtermittelkontamination und Grenzwerte. *Tieraerztliche Praxis (Ausgabe Grosstiere)* **6**, 363–372.
- RUAN, J., H. GAO, N. LI, J. XUE, J. CHEN, C. KE, Y. YE, P.P. FU, J. ZHENG, J. WANG, G. LIN, 2015: Blood Pyrrole-Protein Adducts--A Biomarker of Pyrrolizidine Alkaloid-Induced Liver Injury in Humans. *Journal of Environmental Science and Health. Part C, Environmental Carcinogenesis & Ecotoxicology Reviews* **33** (4), 404–421, DOI: 10.1080/10590501.2015.1096882.
- RUAN, J., C. LIAO, Y. YE, G. LIN, 2013: Lack of metabolic activation and predominant formation of an excreted metabolite of nontoxic platynecine-type pyrrolizidine alkaloids. *Chemical Research in Toxicology* **27** (1), 7–16.
- RUAN, J., M. YANG, P. FU, Y. YE, G. LIN, 2014: Metabolic activation of pyrrolizidine alkaloids: insights into the structural and enzymatic basis. *Chemical Research in Toxicology* **27** (6), 1030–1039, DOI: 10.1021/tx500071q.
- SARVAN, I., M. BÜRGET, O. LINDTNER, M. GREINER, 2017: Expositions-schätzung von Stoffen in Lebensmitteln. *Bundesgesundheitsblatt – Gesundheitsforschung – Gesundheitsschutz* **60** (7), 689–696, DOI: 10.1007/s00103-017-2566-1.
- SMITH, L.W., C.C.J. CULVENOR, 1981: Plant sources of hepatotoxic pyrrolizidine alkaloids. *Journal of Natural Products* **44** (2), 129–152, DOI: 10.1021/np50014a001.
- TEUSCHER, E., U. LINDEQUIST, 2010: Biogene Gifte – Biologie-Chemie-Pharmakologie-Toxikologie. 3. Aufl. Stuttgart.
- THESE, A., D. BODI, S. RONCZKA, M. LAHRSEN-WIEDERHOLT, A. PREISS-WEIGERT, 2013: Structural screening by multiple reaction monitoring as a new approach for tandem mass spectrometry: presented for the determination of pyrrolizidine alkaloids in plants. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **405** (29), 9375–9383.
- WIEDENFELD, H., E. ROEDER, T. BOURAUL, J.A. EDGAR, 2008: Pyrrolizidine alkaloids. Structure and toxicity. V&R Unipress, Göttingen.
- WINK, M., 2019: Quinolizidine and Pyrrolizidine Alkaloid Chemical Ecology – a Mini-Review on Their Similarities and Differences. *Journal of Chemical Ecology* **45** (2), 109–115, DOI: 10.1007/s10886-018-1005-6.
- XIA, Q., X. HE, L. MA, S. CHEN, P.P. FU, 2018: Pyrrolizidine Alkaloid Secondary Pyrrolic Metabolites Construct Multiple Activation Pathways Leading to DNA Adduct Formation and Potential Liver Tumor Initiation. *Chemical Research in Toxicology* **31** (7), 619–628, DOI: 10.1021/acs.chemrestox.8b00096.
- XIA, Q., L. MA, X. HE, L. CAI, P.P. FU, 2015: 7-Glutathione pyrrole adduct: A potential DNA reactive metabolite of pyrrolizidine alkaloids. *Chemical Research in Toxicology* **28** (4), 615–620, DOI: 10.1021/tx500417q.
- XIA, Q., Y. ZHAO, G. LIN, F.A. BELAND, L. CAI, P.P. FU, 2016: Pyrrolizidine alkaloid-protein adducts: potential non-invasive biomarkers of pyrrolizidine alkaloid-induced liver toxicity and exposure. *Chemical Research in Toxicology* **29** (8), 1282–1292.
- XIA, Q., Y. ZHAO, L.S. VON TUNGEN, D.R. DOERGE, G. LIN, L. CAI, P.P. FU, 2013: Pyrrolizidine alkaloid-derived DNA adducts as a common biological biomarker of pyrrolizidine alkaloid-induced tumorigenicity. *Chemical Research in Toxicology* **26** (9), 1384–1396, DOI: 10.1021/tx400241c.
- YANG, M., J. RUAN, H. GAO, N. LI, J. MA, J. XUE, Y. YE, P.P.C. FU, J. WANG, G. LIN, 2017: First evidence of pyrrolizidine alkaloid N-oxide-induced hepatic sinusoidal obstruction syndrome in humans. *Archives of Toxicology* **91** (12), 3913–3925, Publ. online: 15 June 2017.
- ZHUGE, Y., Y. LIU, W. XIE, X. ZOU, J. XU, J. WANG, 2019: Expert consensus on the clinical management of pyrrolizidine alkaloid-induced hepatic sinusoidal obstruction syndrome. *Journal of Gastroenterology and Hepatology* **34** (4), 634–642, DOI: 10.1111/jgh.14612.

© Der Autor/Die Autorin 2020.

 Dies ist ein Open-Access-Artikel, der unter den Bedingungen der Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz (CC BY 4.0) zur Verfügung gestellt wird (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.de>).

© The Author(s) 2020.

 This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.en>).

PA-Kontaminationen in Arzneipflanzen: Vorkommen, Grenzwerte und Maßnahmen

PA contamination in
medicinal plants:
occurrence, limits
and measures

Zusammenfassung

Seit mehreren Jahren wird eine mögliche Kontamination von Arzneipflanzen mit pyrrolizidinalkaloid-haltigen Beikräutern diskutiert. Die Erkenntnisse über ein solches Risiko hat die Anbauer und Lieferanten pflanzlicher Drogen und die Hersteller von pflanzlichen Arzneimitteln veranlasst, Ursachenforschung zu betreiben und Maßnahmen zur Reduktion und Vermeidung einer möglichen PA-Kontamination zu ergreifen, die u.a. zusammenfassend in einem Code of Practice beschrieben sind. Die Ergebnisse von Datensammlungen der Hersteller zeigen über die letzten Jahre eine deutliche Verminderung der PA-Belastung in pflanzlichen Drogen und Extrakten, die für die Herstellung pflanzlicher Arzneimittel eingesetzt werden. Es wird jedoch auch deutlich, dass das Problem einer PA-Kontamination in naher Zukunft nicht vollständig gelöst werden kann. Das Herbal Medicinal Products Committee der europäischen Zulassungsagentur EMA hat im Jahr 2016 für eine Geltungsdauer von 3 Jahren einen vorläufigen Grenzwert von 1,0 µg Pyrrolizidinalkaloiden pro Tag bezogen auf das Fertigarzneimittel empfohlen. Diese Frist ist im Januar 2019 um weitere zwei Jahre verlängert worden.

Stichwörter: Pyrrolizidinalkaloide, pflanzliche Arzneimittel, Kontamination, Grenzwerte

Abstract

Since 2013, a potential contamination of medicinal plants with pyrrolizidine alkaloid-containing weeds has been discussed. The knowledge about such a risk of contamination induced cultivators and suppliers of medicinal plants and manufacturers of herbal medicinal products to investigate the situation and to take action in order to reduce or avoid potential PA contamination as summarised e.g. in a Code of Practice. Over the past years, the results of data collections show a remarkable reduction of the PA burden in herbal drugs and herbal extracts used for the production of herbal medicinal products. However, it is obvious that the problem of contamination cannot be completely resolved in the near future. The Herbal Medicinal Products Committee at the European Medicines Agency recommended a transitional limit of 1.0 µg pyrrolizidine alkaloids per day related to the final product for three years which has recently been prolonged by further two years.

Key words: pyrrolizidine alkaloids; herbal medicinal products; contamination; limits

Affiliation

Bundesverband der Arzneimittel-Hersteller e.V. (BAH), Bonn

Kontaktanschrift

Dr. Barbara Steinhoff, Bundesverband der Arzneimittel-Hersteller e.V. (BAH), Ublerstraße 71–73, 53173 Bonn, E-Mail: steinhoff@bah-bonn.de

Zur Veröffentlichung angenommen

03. November 2019

Einleitung

Pyrrrolizidinalkaloide (PA) sind natürliche Bestandteile von vielen Pflanzen, die zum Teil auch arzneilich verwendet werden, wie *Symphytum*, *Petasites*, *Tussilago* oder *Eupatorium*. In einem Stufenplanverfahren legte das deutsche Bundesgesundheitsamt (BGA) im Jahr 1992 fest, dass die maximale tägliche Aufnahmemenge 0,1 µg für die innerliche Anwendung und 10 µg für die äußerliche Anwendung nicht überschritten werden darf. Bei Begrenzung der Anwendung auf 6 Wochen im Jahr betrug die maximale tägliche Aufnahmemenge 1 µg für die innerliche Anwendung und 100 µg für die äußerliche Anwendung. Ungeachtet der derzeitigen Diskussionen durch Kontaminationen mit PA-Pflanzen gelten diese Maßnahmen weiterhin für pflanzliche Arzneimittel, die genuin PA enthalten und die im Stufenplanbescheid von 1992 gelistet sind (BUNDESGESUNDHEITSAMT, 1992).

Im Zusammenhang mit der Erarbeitung einer Monographie zu *Symphytum* publizierte das Herbal Medicinal Products Committee (HMPC) der European Medicines Agency (EMA) eine Stellungnahme vom 24. November 2014 zur Anwendung pflanzlicher Arzneimittel, die toxische ungesättigte PA enthalten (HMPC, 2014). Dieses sah bei einer Begrenzung der Anwendungsdauer auf 14 Tage eine maximale Tagesdosis von 0,35 µg vor. Diese Grenze liegt innerhalb der Größenordnung die von der European Food Safety Authority (EFSA) als gefahrlos eingestuft lebenslangen Aufnahmemenge von 0,42 µg PA pro Tag (EFSA, 2005, 2011). Ursprünglich war die HMPC-Stellungnahme für die Beurteilung von Arzneimitteln aus genuin PA-haltigen Arzneipflanzen intendiert, jedoch wurden Produkte, die PA aus anderen Quellen enthalten, nicht ausgeschlossen.

Das Problem der Kontaminationen

Durch die BfR-Veröffentlichung von Analyseergebnissen zum Vorkommen von PA in 221 Proben von Lebensmitteltees und zum Teil Arzneitees im Juli 2013 (BfR, 2013) wurde deutlich, dass PA auch als durch Beikräuter wie z.B. *Senecio* verursachte Verunreinigung in Arzneitees auftreten können. Die Publikation der BfR-Daten hat die Lieferanten von Arzneidroge und die Hersteller von pflanzlichen Arzneimitteln, insbesondere zunächst von Arzneitees veranlasst, Maßnahmen zur Überprüfung einer möglichen Belastung und zur Reduktion eines möglichen Kontaminationsrisikos zu ergreifen.

Um das Problem der Kontamination mit PA von behördlicher Seite zu adressieren und die Hersteller zu verpflichten, Maßnahmen im Sinne einer Chargenprüfung durchzuführen, erschien am 31. Mai 2016 ein weiteres Public Statement des HMPC im Hinblick auf PA (HMPC, 2016). Dieses legt für Arzneimittel pflanzlichen Ursprungs eine tägliche Aufnahmemenge von 1,0 µg PA pro Tag bezogen auf das Fertigarzneimittel fest, die für einen Übergangszeitraum von drei Jahren gilt. Danach soll nach den Ausführungen dieses Dokumentes wieder der

ursprünglich empfohlene Wert von 0,35 µg PA pro Tag angewendet werden (HMPC, 2014). Vorausgegangen war der Publikation des HMPC vom 31. Mai 2016 eine ähnliche Bekanntmachung des Bundesinstitutes für Arzneimittel und Medizinprodukte (BfArM) vom 1. März 2016 zur Prüfung auf PA (BfArM, 2016), die der Erkenntnis Rechnung trägt, dass PA auch als durch Beikräuter verursachte Kontamination in pflanzlichen Materialien auftreten können. Sie verpflichtet die Arzneimittel-Hersteller, den Prüfumfang in Form von drei Kategorien zu definieren, so dass in Abhängigkeit von den vorliegenden Daten entweder eine Stichprobenprüfung („Skip Testing“) oder eine Routineprüfung durchgeführt wird (Abb. 1).

Es ist dabei die Aufgabe des Arzneimittel-Herstellers, die Anforderungen an die einzusetzenden Ausgangsstoffe anhand der Tagesdosis des Endproduktes zu berechnen. Bei Mischungen, in denen mehrere Ausgangsstoffe zum Einsatz kommen, gestaltet sich diese Berechnung entsprechend komplizierter. Nicht einfach ist die Situation auch für die Lieferanten der Ausgangsstoffe, da gegebenenfalls für die gleiche Droge verschiedene Spezifikationen vorliegen können. Eine errechnete Überschreitung des Grenzwertes von 1,0 µg pro Tag im Fertigarzneimittel bedeutet in jedem Fall, dass die betreffende Droge für das Produkt nicht mehr eingesetzt werden darf.

Für die Kenntnis der Belastungswahrscheinlichkeit einer Droge und damit auch für die Entscheidung über den Prüfumfang bzw. die Möglichkeit, lediglich eine Stichprobenprüfung durchzuführen, ist die Schaffung einer ausreichenden Datenbasis essentiell. Weist für eine Droge eine große Anzahl von negativen Befunden auf eine sehr geringe Belastungswahrscheinlichkeit hin und kann zusätzlich in der produktspezifischen Betrachtung auch die Kenntnis des Gewinnungsprozesses (z.B. Ernte-technik) Aufschluss über ein geringes Kontaminationsrisiko geben, so kann eine solche Droge auch unter Berücksichtigung der Dosierung des Fertigarzneimittels ein „Kandidat“ für ein weitmaschigeres „Skip Testing“ sein. Gegenüber den Behörden ist von den Unternehmen in jedem Fall eine entsprechende Dokumentation mit z.B. Spezifikationen, Validierungsdaten und der Dokumentation von Referenzsubstanzen vorzulegen.

Aktivitäten von Anbauern und Herstellern

Vor dem Hintergrund, dass eine vollständige Vermeidung von PA-Kontaminationen nach dem gegenwärtigen Stand der Technik nicht möglich ist und deshalb Präventivmaßnahmen von essentieller Bedeutung sind, wurde gemeinsam von verarbeitender Industrie und Anbauern ein Code of Practice erarbeitet (DITTRICH et al., 2016). Dieses Dokument trägt der Notwendigkeit einer Einbeziehung aller Prozessbeteiligten aus den Bereichen Anbau, Nacherntebehandlung, Drogenverarbeitung sowie Herstellung von Extrakten bzw. Fertigarzneimitteln Rechnung und beschreibt mögliche Beschreibung der Risiken und Einflussmöglichkeiten entlang der gesamten Prozesskette.

A Sehr geringe oder keine Kontaminationsproblematik

Aufgrund vorliegender Daten kann nachvollziehbar belegt werden, dass in der Regel der Gehalt an Pyrrolizidinalkaloiden im Fertigarzneimittel $\leq 0,1 \mu\text{g}$ Pyrrolizidinalkaloide bezogen auf die Tagesdosis ist. Die Einordnung in diese Kategorie ist akzeptabel, wenn der Wert bei 90 % der untersuchten Proben diesen Grenzwert unterschreitet und keine Probe über einem Wert von $0,35 \mu\text{g}$ Pyrrolizidinalkaloide bezogen auf die Tagesdosis liegt.

Für diese Kategorie ist lediglich eine Stichprobenprüfung erforderlich. Der spezifische Umfang ist aus den vorliegenden Daten abzuleiten.

B Geringe Kontaminationsproblematik

Aufgrund vorliegender Daten kann nachvollziehbar belegt werden, dass in der Regel der Gehalt an Pyrrolizidinalkaloiden im Fertigarzneimittel $\leq 0,35 \mu\text{g}$ Pyrrolizidinalkaloide bezogen auf die Tagesdosis ist. Die Einordnung in diese Kategorie ist akzeptabel, wenn der Wert bei 90 % der untersuchten Proben diesen Grenzwert unterschreitet und keine Probe über einem Wert von $1,0 \mu\text{g}$ Pyrrolizidinalkaloide bezogen auf die Tagesdosis liegt.

Für diese Kategorie ist eine engmaschigere Stichprobenprüfung erforderlich. Der spezifische Umfang ist aus den vorliegenden Daten abzuleiten.

C Relevante Kontaminationsproblematik

Liegen keine Daten vor oder ist aufgrund vorliegender Daten eine Zuordnung zu den Kategorien A oder B nicht möglich, so ist eine Routineprüfung in die Freigabespezifikation aufzunehmen, die einen oberen Grenzwert von $1,0 \mu\text{g}$ Pyrrolizidinalkaloiden bezogen auf die Tagesdosis festlegt.

Abb. 1. Kategorien zur Festlegung des Prüfumfanges (BfArM, 2016, HMPC, 2016)

Für alle diese Schritte werden die möglichen Risiken einer PA-Kontamination und ihre Wahrscheinlichkeit beschrieben und Vorschläge für Maßnahmen zusammen mit einer Bewertung dieser Maßnahmen aufgeführt. Für den Prozessschritt der Ernte des Pflanzenmaterials beispielsweise besteht das Risiko, dass PA-haltige Beikräuter gemeinsam mit der betreffenden Kulturpflanze geerntet werden. Die Wahrscheinlichkeit kann in Abhängigkeit von der Spezies der Kulturpflanze und der Erntetechnologie hoch sein. Mögliche Maßnahmen können in einer Optimierung der Erntetechnologie, z.B. der Schnitthöhe, und des Erntezeitpunktes bestehen. Die Relevanz solcher Maßnahmen ist als hoch einzuschätzen, hängt jedoch von verschiedenen individuellen Faktoren ab, so dass ihre Eignung begrenzt sein kann.

Der Code of Practice gibt damit einen Rahmen für ein individuelles Vorgehen bei der Herstellung pflanzlicher Arzneimittel auf allen Prozessstufen vor, das die Identifizierung der Art und des Umfangs des jeweiligen Problems durch eine Risikoanalyse und das Einleiten entsprechender Maßnahmen umfasst. Auf dieser Basis kann in den Unternehmen ein produkt-spezifischer Maßnahmenplan erstellt werden.

Einrichtung einer Hersteller-Datenbank

Die Arzneimittel-Hersteller hatten bereits im Jahr 2013 verbändeübergreifend mit dem Aufbau einer Datenbank

zur Erfassung von Untersuchungsbefunden an Drogen, Extrakten und homöopathischen Urtinkturen begonnen, an der momentan fast 50 Hersteller teilnehmen. Zusammenfassende Auswertungen werden regelmäßig dem BfArM, dem HMPC und anderen Behörden auf Nachfrage vorgelegt. Die Auswertung erfolgen jährlich für einen Prüfzeitraum vom 1. Mai eines Jahres bis zum 30. April des Folgejahres.

In die Auswertung der Jahre 2017/2018 wurden insgesamt 7251 Proben von 264 Drogen und 820 Proben von Extrakten aus 117 Drogen und 86 Extraktionsmitteln einbezogen. Die analytischen Daten wurden während der Qualitätskontrolle der Hersteller erhoben, wobei die Bestimmung der PA mit validierten Methoden durchgeführt wurde. Für 27 Drogen (4446 Proben) und 22 Extrakte (425 Proben) mit der größten Marktbedeutung (und damit auch der höchsten Anzahl an Proben) wurde der prozentuale Anteil der Befunde mit der Zuordnung zu den drei Kategorien A ($\leq 0,1 \mu\text{g}$), B ($\leq 0,35 \mu\text{g}$) und C ($\leq 1,0 \mu\text{g}$) errechnet. Um einen Bezug zwischen diesen Grenzwerten und den PA-Gehalten der Drogen bzw. Extrakte herzustellen, wurde die maximale Tagesdosis der jeweiligen HMPC-Monographie zur Berechnung verwendet, wodurch für alle Produkte ein Worst case-Szenario angenommen wurde, obwohl die tatsächlichen Aufnahmemengen der Produkte deutlich darunterliegen.

Von den 27 marktbedeutendsten Drogen konnten 37% den Grenzwert von $0,35 \mu\text{g}$ PA berechnen auf die Tagesdosis einhalten und 63% den Grenzwert vom $1,0 \mu\text{g}$ PA.

Von den 22 ausgewählten wichtigsten Extrakten konnten 68% den Grenzwert von 0,35 µg PA berechnet auf die Tagesdosis einhalten und 82% den Grenzwert von 1,0 µg PA. Die Prozentwerte sind jeweils kumulierte Werte aus den Kategorien A + B bzw. A + B+C (STEINHOFF, 2019).

Die Datenauswertungen bestätigen, dass über die letzten Jahre eine deutliche und kontinuierliche Verbesserung erfolgt ist. Die Auswertungen erlauben darüber hinaus für die Hersteller eine Identifizierung kritischer Drogen und Extrakte und dienen der Überprüfung der Effizienz der durchgeführten Maßnahmen, wie sie im oben beschriebenen Code of Practice (DITTRICH et al., 2016) niedergelegt sind. Die Datenauswertungen zeigen aber auch, dass in vielen Fällen die Einhaltung eines Grenzwertes von 1,0 µg PA/Tag und die generelle Reduktion auf 0,35 µg PA/Tag in naher Zukunft nicht möglich sind.

Analytische Fragestellungen

Die Bekanntmachung des BfArM vom 1. März 2016 (BfArM, 2016) nimmt hinsichtlich der analytischen Prüfungen in Bezug auf den Anhang des Stufenplanbescheides (BUNDESGESUNDHEITSAMT, 1992) und die Methode des BfR (BfR, 2014). Bei dieser handelt es sich um eine LC-MS/MS-Methode, die aufgrund der Komplexität der analytischen Fragestellungen und der erforderlichen Vergleichbarkeit der Ergebnisse als Stand der Technik anzusehen sind. Neben der vom BfR vorgeschlagenen Methode sind in der Praxis für die Erfassung von PA-Kontaminationen auch andere, validierte LC-MS/MS-Methoden geeignet, die gewährleisten, dass die Alkaloide eindeutig identifiziert und hinreichend empfindlich quantifiziert werden.

Da von den Unternehmen in Bezug auf PA-Kontaminationen jeweils individuelle Dokumentationen ihrer Untersuchungen einschließlich Spezifikationen, Validierungsdaten und Referenzsubstanzen vorzulegen sind, erschien die Erarbeitung eines einheitlichen Standards in Form einer Monographie des Europäischen Arzneibuchs sinnvoll. Eine solche Rahmenmonographie, die generelle Anforderungen an entsprechende Methoden enthält und exemplarisch die BfR-Methode (BfR, 2014) sowie einen Prüfumfang von 28 Substanzen beschreibt, ist zur Kommentierung vorpubliziert worden (PHARMEUROPA, 2019).

Forschungsprojekte

Zur weiteren Aufklärung der äußerst komplexen Fragestellungen im Zusammenhang mit PA-Kontaminationen spielen neben allen Aktivitäten innerhalb der gesamten Prozesskette vom Anbau der Pflanzen bis zur Freigabe des Fertigproduktes verschiedene Forschungsprojekte eine wichtige Rolle. Hierzu gehören beispielsweise:

- Sammlung von Daten zum Vorkommen von Beikräutern, insbesondere von PA-haltigen Beikräutern in

Arzneipflanzenbeständen sowie Aufbau einer entsprechenden Datenbank (öffentlich gefördert mit Beteiligung der FAH, FORSCHUNGSVEREINIGUNG DER ARZNEIMITTEL-HERSTELLER E.V., 2019a, 2019b). Einbezogen sind auch Untersuchungen zur Aufnahme von PA durch Pflanzen aus dem Boden (FAH, 2019a).

- Erstellung sogenannter „Unkrautsteckbriefe“ für die Spezies *Crotalaria*, *Echium*, *Heliotropium*, *Myosotis* und *Senecio* zur Anwendung beim Anbau und bei der Sammlung von Arzneipflanzen) (FAH, 2019b). Es handelt sich um ein konsortiales Projekt, an dem 19 Hersteller beteiligt sind.
- In vitro-Untersuchungen zur Hepatotoxizität und Genotoxizität ausgewählter Alkaloide unterschiedlicher Struktur (Lasiocarpin, Riddelliin, Retrorsin, Senecionin, Seneciphyllin, Heliotropin, Echimidin, Lycopsamin, Europin, Indicin) zum Beleg der Hypothese, dass verschiedene PA sich signifikant in ihren toxikologischen Potenzialen unterscheiden (MERZ und SCHRENK, 2016).

Weitere Forschungsarbeiten untersuchen u.a. Möglichkeiten der Beikrautregulierung im konventionellen und ökologischen Anbau, beispielsweise durch Auswahl geeigneter Herbizide bzw. durch nicht-chemische Methoden. Auch die Entwicklung von Methoden zur Identifizierung und Abtrennung fremder Bestandteile z.B. Beikrautuntermischungen im Erntegut scheinen für die ersten Prozessschritte der Drogengewinnung vielversprechende Ansätze zu bieten.

Regulatorische Entwicklungen

Im Juni 2017 publizierte das EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM) eine neue Bewertung des kanzerogenen Risikos von PA einschließlich neuer Daten zum Vorkommen von PA in Honig, Tee, Kräutertees und Nahrungsergänzungsmitteln (EFSA, 2017). Dabei wurde eine neue Referenzdosis von 237 µg/kg Körpergewicht pro Tag festgelegt, die sich um den Faktor 3 von der bisherigen Empfehlung unterschied. Bei Zugrundelegung dieses Faktors auch bei der Diskussion um den HMPC-Grenzwert würde mit $3 \times 0,35 \mu\text{g PA}$ pro Tag ein Grenzwert in der Größenordnung von etwa 1,0 µg PA pro Tag resultieren.

Vom 14. bis 16. Januar 2019 fand eine Sitzung des HMPC statt, bei welcher das Thema „PA“ erneut intensiv diskutiert wurde. Wie aus dem Bericht (HMPC, 2019) (s. auch Abb. 2) hervorgeht, wurde unter Bezugnahme auf die neue Risikobewertung der EFSA (EFSA, 2017) und die Arbeiten des Europäischen Arzneibuchs an einer Bestimmungsmethode die Übergangsfrist, in der der Grenzwert für die tägliche Aufnahmemenge an PA von 1,0 µg anstelle von 0,35 µg gilt, um weitere zwei Jahre verlängert. Gleichzeitig wurden die Fachkreise aufgerufen, neue Daten und weitere Materialien einzureichen, auf deren Grundlage die bisherigen Public Statements des HMPC (HMPC, 2014, 2016) aktualisiert werden sollten.

Scientific/regulatory guidance**Update to Public statement on Contamination of herbal medicinal products/traditional herbal medicinal products with pyrrolizidine alkaloids (EMA/HMPC/328782/2016)**

Since the HMPC Public Statement from May 2016, new information on the risks of pyrrolizidine alkaloids in honey, tea, herbal infusions (herbs) and food supplements was published by the European Food Safety Authority (EFSA)¹. Furthermore, the European Directorate for Quality of Medicines (EDQM) has established a Working Party to develop a general Ph. Eur. method for testing pyrrolizidine alkaloids (PAs); this work is ongoing².

Due to ongoing European discussions and efforts for harmonization to characterise the risk of exposure of PAs to human health, the HMPC has agreed by consensus to extend the transitional period for products with levels up to 1.0 µg PAs/day for a further 2 years.

Whilst difficulties for manufacturers of herbal medicinal products to implement measures to reduce PA contamination are acknowledged, manufacturers should continue to take appropriate actions including implementation of enhanced GACP to ensure daily intake does not exceed 1.0 µg PAs/day.

As part of the HMPC work plan, the public statements on pyrrolizidine alkaloids (PAs) (EMA/HMPC/328782/2016 and EMA/HMPC/893108/2011) will be revised to provide direction/guidance for industry and NCAs.

Calls for data will be published on the EMA website at:

<https://www.ema.europa.eu/en/human-regulatory/research-development/scientific-guidelines/multidisciplinary/multidisciplinary-herbal-medicinal-products>

Interested parties are invited to provide available new information by 31 July 2019.

Abb. 2. Auszug aus dem Bericht über die HMPC-Sitzung vom 14.–16. Januar 2019 (HMPC, 2019)

Für den Lebensmittelbereich leitete Mitte Januar 2019 die EU-Kommission einen Konsultationsprozess zur Festsetzung von Höchstgehalten u.a. für PA ein und schlug hierzu Grenzwerte für verschiedene Produkte u.a. für Kräutertees, Kräuter und pflanzliche Nahrungsergänzungsmittel vor. Die Vorschläge sollen in eine Überarbeitung der Richtlinie 1881/2006 (VERORDNUNG (EG), 2005) einfließen.

Zusammenfassung und Schlussfolgerung

Die Kontamination von Arzneipflanzen mit PA stellt eine große Herausforderung für Arzneipflanzenanbauer, Lieferanten und Hersteller pflanzlicher Arzneimittel in Bezug auf die Identifizierung und Quantifizierung der Kontaminationen und ihre Vermeidung bzw. Reduktion dar. Wie aus den Auswertungen der Datensammlungen ersichtlich ist, ist eine vollständige Eliminierung von PA-Kontaminationen auf den verschiedenen Herstellungsstufen nicht möglich. Die Hersteller pflanzlicher Arzneimittel haben durch die Anwendung ihres Code of Practice, durch Datensammlungen und Eliminierung von Belastungsspitzen sowie darüber hinaus durch Beteiligung an Forschungsprojekten viele Maßnahmen ergriffen, die schließlich zu einer andauernden und nachhaltigen Reduktion von PA-Kontaminationen geführt haben. Dadurch wird die weitere Verfügbarkeit sicherer und qualitativ hochwertiger Produkte gewährleistet.

Die Ergebnisse der Datensammlungen zeigen eine deutliche Verminderung der PA-Belastung in pflanzlichen Drogen und Extrakten, die für die Herstellung pflanzlicher Arzneimittel eingesetzt werden. Es wird jedoch auch deutlich, dass das Problem einer PA-Kontamination in

naher Zukunft nicht vollständig gelöst werden kann. Die Hersteller können den Grenzwert von 1,0 µg PA pro Tag für die meisten Produkte einhalten, jedoch ist eine weitere Reduktion auf 0,35 µg pro Tag nicht realistisch.

Unter Berücksichtigung der Risikobewertung der EFSA und der laufenden Aktivitäten des Europäischen Arzneibuchs sowie der Tatsache, dass die Hersteller umfassende Maßnahmen durchgeführt haben, hat das HMPC die Übergangsfrist für die Geltung des Grenzwertes von 1,0 µg PA pro Tag bis zum 31. Mai 2021 verlängert. Für weitere Diskussionen über einen möglichen permanenten Grenzwert sollten toxikologische Bewertungen und die Ergebnisse laufender Forschungsarbeiten mit einbezogen werden.

Interessenskonflikte


Die Autorin erklärt, dass keine Interessenskonflikte vorliegen.

Literatur


- BfARM (German Federal Institute for Drugs and Medical Devices), 2016: Announcement on the test of the content of pyrrolizidine alkaloids to ensure the quality and safety of medicinal products that contain herbal substances or herbal preparations or homeopathic preparations made of herbal starting materials as active substances. Bonn: BfArM; 1 March 2016. Zugriff: 3. November 2019, URL: https://www.bfarm.de/SharedDocs/Bekanntmachungen/DE/Arzneimittel/besTherap/bm-besTherap-20160301-pa-pdf.pdf;jsessionid=458AAF61F1254F4122155357D3650307.1_cid319?__blob=publicationFile&v=3.
- BfR (German Federal Institute for Risk Assessment), 2013: Pyrrolizidine alkaloids in herb teas and teas. Statement 018/2013 of the BfR of 5 July 2013. Zugriff: 3. November 2019, URL: <https://mobil.bfr.bund.de/cm/343/pyrrolizidinalkaloide-in-kraeutertees-und-tees.pdf>.

- BfR (German Federal Institute for Risk Assessment), 2014: Determination of pyrrolizidine alkaloids (PA) in botanical substances using SPE-LC-MS/MS. Description of the method. BfR-PA-Tee-2.0/2014. Zugriff: 3. November 2019, URL: <http://www.bfr.bund.de/cm/343/bestimmung-von-pyrrolizidinalkaloiden.pdf>.
- BUNDESGESUNDHEITSAMT, 1992: Bekanntmachung über die Zulassung und Registrierung von Arzneimitteln vom 05. Juni 1992 Abwehr von Arzneimittelrisiken – Stufe II, hier: Arzneimittel, die Pyrrolizidin-Alkaloide mit einem 1,2-ungesättigtem Necin-Gerüst enthalten. Bundesanzeiger Nr. 111 vom 17. Juni 1992.
- DITTRICH, H., K. HÖSEL, H. SIEVERS, B. KLIER, F. WAIMER, H. HEUBERGER et al., 2016: Code of Practice zur Vermeidung und Verringerung von Kontaminationen pflanzlicher Arzneimittel mit Pyrrolizidinalkaloiden. Pharmazeutische Industrie **78**, 836-845.
- EFSA, 2005: Opinion of the Scientific Committee on a Request from EFSA Related to a Harmonised Approach for Risk Assessment of Substances Which are Both Genotoxic and Carcinogenic. EFSA Journal **282**, 1-31, DOI: 10.2903/j.efsa.2005.282.
- EFSA, 2011: Scientific Opinion on Pyrrolizidine Alkaloids in Food and Feed. EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM). EFSA Journal **9**(11), 2406, DOI: 10.2903/j.efsa.2011.2406.
- EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM), 2017: Risks for human health related to the presence of pyrrolizidine alkaloids in honey, tea, herbal infusions and food supplements. EFSA Journal **15**(7), 4908-4943, DOI: 10.2903/j.efsa.2011.2406.
- FORSCHUNGSVEREINIGUNG DER ARZNEIMITTEL-HERSTELLER E.V. (FAH), 2019a: Themen und Projekte. Zugriff: 3. November 2019, URL: [http://www.fah-sinzig.de/site/index.php?id=projects&no_cache=1&tx_fahprojects_pi1\[themeID\]=3&tx_fahprojects_pi1\[projectID\]=68](http://www.fah-sinzig.de/site/index.php?id=projects&no_cache=1&tx_fahprojects_pi1[themeID]=3&tx_fahprojects_pi1[projectID]=68).
- FORSCHUNGSVEREINIGUNG DER ARZNEIMITTEL-HERSTELLER E.V. (FAH), 2019b: Themen und Projekte. Zugriff: 3. November 2019, URL: [http://www.fah-sinzig.de/site/index.php?id=projects&no_cache=1&tx_fahprojects_pi1\[themeID\]=3&tx_fahprojects_pi1\[projectID\]=73](http://www.fah-sinzig.de/site/index.php?id=projects&no_cache=1&tx_fahprojects_pi1[themeID]=3&tx_fahprojects_pi1[projectID]=73).
- HMPC, 2014: Public Statement on the Use of Herbal Medicinal Products Containing Toxic, Unsaturated Pyrrolizidine Alkaloids (PAs). Final. 24 November 2014. Zugriff: 3. November 2019, URL: https://www.ema.europa.eu/documents/public-statement/public-statement-use-herbal-medicinal-products-containing-toxic-unsaturated-pyrrolizidine-alkaloids_en.pdf.
- HMPC, 2016: Public Statement on contamination of herbal medicinal products/traditional herbal medicinal products with pyrrolizidine alkaloids – Transitional recommendations for risk management and quality control (EMA/HMPC/328782/2016). 31 May 2016. Zugriff: 3. November 2019, URL: https://www.ema.europa.eu/documents/public-statement/public-statement-contamination-herbal-medicinal-products/traditional-herbal-medicinal-products-pyrrolizidine-alkaloids_en.pdf.
- HMPC, 2019: HMPC meeting report on European Union herbal monographs, guidelines and other activities. The 86th HMPC meeting, held on 14-16 January 2019 (EMA/HMPC/26549/2019). 16 January 2019. Zugriff: 3. November 2019, URL: https://www.ema.europa.eu/documents/committee-report/hmpc-meeting-report-european-union-herbal-monographs-guidelines-other-activities-14-16-january-2019_en.pdf.
- MERZ, K.-H., D., D. SCHRENK, 2016: Interim Relative Potency Factors for the Toxicological Risk Assessment of Pyrrolizidine Alkaloids in Food and Herbal Medicines. Toxicology Letters **263**:44-57, DOI: 10.1016/j.toxlet.2016.05.002.
- PHARMEUROPA, 2019: Chapter 2.8.26. Contaminant Pyrrolizidine Alkaloids. 32.1. Dezember 2019.
- VERORDNUNG (EG) Nr. 1881/2006 der Kommission vom 19. Dezember 2006 zur Festsetzung der Höchstgehalte für bestimmte Kontaminanten in Lebensmitteln. Amtsblatt der EU Nr. L 364 vom 20. Dezember 2006. Zugriff: 3. November 2019, URL: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/DE/TXT/PDF/?uri=CELEX:32006R1881&from=EN>.
- STEINHOFF, B., 2019: Pyrrolizidine alkaloid contamination in herbal medicinal products: Limits and occurrence. Food and Chemical Toxicology **130**, 262-266, DOI: 10.1016/j.fct.2019.05.026.

© Der Autor/Die Autorin 2020.

 Dies ist ein Open-Access-Artikel, der unter den Bedingungen der Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz (CC BY 4.0) zur Verfügung gestellt wird (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.de>).

© The Author(s) 2020.

 This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.en>).

Jacqueline Wiesner, Klaus Reh, Werner Knöss

Regulatorische Aspekte zu PA-Kontaminationen in Arzneipflanzen

Regulatory Aspects concerning PA contamination in medicinal plants

Zusammenfassung

Erste Publikationen zum Vorkommen von PA-Kontaminationen in Kräutertees erfolgten im Jahr 2013. Kurze Zeit später folgten dann auch Berichte über eine Kontamination von pflanzlichen Arzneimitteln mit PA. Daraufhin forderten verschiedene nationale Zulassungsbehörden und der Ausschuss für pflanzliche Arzneimittel der Europäischen Arzneimittelagentur die Zulassungsinhaber von pflanzlichen Arzneimitteln in Europa dazu auf, Risikobewertungen und Maßnahmen zur Risikominimierung in Bezug auf Pyrrolizidinalkaloide durchzuführen. Sowohl nationale Behörden als auch der HMPC führten Grenzwerte für PA als Kontaminanten ein. Zusätzlich hatte der HMPC sich dafür eingesetzt, dass das Europäische Arzneibuch eine geeignete PA-Bestimmungsmethode im Bereich der Spurenanalytik entwickelt. Diese liegt im Moment als Entwurf zur öffentlichen Kommentierung vor.

Stichwörter: Pyrrolizidinalkaloide, pflanzliche Arzneimittel, Kontamination, Grenzwerte, HMPC

Abstract

The first reports on the occurrence of PA contamination in herbal teas were published in 2013, followed shortly afterwards by reports on the contamination of herbal medicinal products with PA. As a result, various national

regulatory authorities and the Committee for Herbal Medicinal Products of the European Medicines Agency requested marketing authorisation holders of herbal medicinal products in Europe to carry out risk assessments and risk reduction measures with regard to pyrrolizidine alkaloids. Both, national authorities and the HMPC introduced limits for PA as a contaminant. In addition, the HMPC had endorsed the European Pharmacopoeia to develop a suitable PA determination method in the field of trace analysis. This is currently available as a draft for public consultation.

Key words: pyrrolizidine alkaloids, herbal medicinal products, contamination, limits, HMPC

Einleitung

Die Toxizität von Pyrrolizidinalkaloid (PA)-haltigen Pflanzen ist schon lange bekannt, erste Berichte zu akuten Vergiftungen bei Weidevieh stammen aus dem 18. Jahrhundert (MOLYNEUX et al., 2011). Auch heute noch kommt es weltweit immer wieder zu schweren Verlusten von Weidevieh (USDA, 2014), dabei treten sowohl Intoxikationen durch eine große Aufnahme der Pflanzen über einen kurzen Zeitraum, üblicher jedoch durch eine Aufnahme subletaler Dosen über einen längeren Zeitraum (Wochen bis mehrere Jahre) auf (ANFZA, 2001).

Affiliation

Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte, Bonn

Kontaktanschrift

Dr. Jacqueline Wiesner, Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte, Kurt-Georg-Kiesinger-Allee 3, 53175 Bonn, E-Mail: jacqueline.wiesner@bfarm.de

Zur Veröffentlichung angenommen

20. Februar 2020

Auch beim Menschen wurden immer wieder schwere akute Vergiftungsfälle, allerdings eher sporadisch und endemisch, beschrieben. Gut dokumentiert sind solche Fälle seit dem Beginn des letzten Jahrhunderts (MOLYNEUX et al., 2011).

Dabei gelten von den mehr als 600 bekannten PA die 1,2-ungesättigten PA als hepatotoxisch. Darüber hinaus liegen für einige dieser Verbindungen auch Daten zur Genotoxizität und Karzinogenität aus in-vitro und in-vivo (Tier)-Versuchen vor (CULVENOR, 1983; MOREIRA et al., 2018; CHEN et al., 2019).

Erste regulatorische Maßnahmen

Sowohl die Daten zur akuten Toxizität, aber vor allem auch die Karzinogenitätsdaten führten vor mehr als 30 Jahren zur Initiierung eines Stufenplanverfahrens durch das Bundesgesundheitsamt (BGA). Im Ergebnis der Anhörungen der betroffenen pharmazeutischen Unternehmer wurde 1992 ein Stufenplan veröffentlicht (BGA, 1992), der die Verkehrsfähigkeit von PA-haltigen Arzneimitteln regelte und darüber hinaus auch Hinweise in Bezug auf die Gestaltung von Packungsbeilagen und Fachinformationen (z.B. in Bezug auf die Patientengruppen) enthielt. Basierend auf diesem Stufenplan durfte für pflanzliche Zubereitungen mit einer Monografie der Kommission E die maximale tägliche Aufnahmemenge 1 µg (innerliche Anwendung) und 100 µg (äußerliche Anwendung) nicht überschreiten. Dabei war die Aufnahme insgesamt auf 6 Wochen im Jahr beschränkt. Für eine längere Anwendung bzw. für pflanzliche Zubereitungen ohne Monografie der Kommission E betrug die maximale tägliche Aufnahmemenge 0,1 µg (innerliche Anwendung) und 10 µg (äußerliche Anwendung).

Aktuelle regulatorische Fragestellungen

Mit Verabschiedung der Richtlinie 2004/24/EU wurde der Ausschuss für pflanzliche Arzneimittel (HMPC) bei der Europäischen Arzneimittelagentur (EMA) als vierter der mittlerweile sieben Ausschüsse errichtet. Zu den Aufgaben des HMPC gehört u.a. die Erstellung von Monografien, in denen die Angaben zu Wirksamkeit und Unbedenklichkeit von pflanzlichen Stoffen bzw. pflanzlichen Zubereitungen nach kritischer Bewertung zusammengefasst sind. Sie spiegeln den aktuellen wissenschaftlichen Erkenntnisstand wieder und haben in Deutschland die Monografien der Kommission E abgelöst. Bei auftretenden Fragestellungen zu z.B. toxikologisch relevanten Inhaltsstoffen von Pflanzen bzw. pflanzlichen Zubereitungen erarbeitet der HMPC unterstützende Dokumente als sogenannte „public statements“, wie es z.B. bei der Monografieerstellung für *Symphytum* zur Bewertung der Toxizität von PA notwendig wurde.

Die publizierte Bewertung (HMPC, 2014) definiert einen Grenzwert von 0,007 µg/kg KG für die tägliche Aufnahme. Ausgehend von einem Körpergewicht von 50 kg (begründet aus den Guidelines der Internationalen

Konferenz zur Harmonisierung technischer Anforderungen für die Zulassung von Humanarzneimitteln (ICH) und der EMA) führt das für Erwachsene zu einer erlaubten Aufnahmemenge von 0,35 µg/Tag. Die Beurteilung basiert dabei vorrangig auf zwei Karzinogenitätsstudien zur Lasiocarpin (NCI, 1978) und Riddelliin (NTP, 2008). In beiden Studien führte die orale Gabe der beiden PA in Ratten u. a. zu Haemangiosarkomen, was als sensitivster Endpunkt angesehen wurde. Die eigentliche Bewertung zur Ableitung des Grenzwertes basiert vor allem auf der Lasiocarpin-Studie.

Entsprechend internationaler Leitlinien (z.B. ICHM7; EMA, 2015) kann sowohl die Berechnung über den TD₅₀-Ansatz (TD₅₀: Dosis mit einer 50%igen Tumorzinzidenz), als auch den BMDL₁₀-Ansatz (BMDL₁₀: eine Schätzung der niedrigsten Dosis, die mit 95%iger Sicherheit nicht mehr als 10% der Krebsfälle bei Nagetieren verursachen wird) gewählt werden. Beide Grenzwerte, die man auf Grund der Lasiocarpin-Studie berechnen konnte, sind dabei vergleichbar, so dass sich der HMPC der Bewertung und Ableitung des Grenzwertes der EFSA (EFSA, 2011) von 0,007 µg/kg KG/Tag, der als wahrscheinlich nicht besorgniserregend in Bezug auf das Krebsrisiko angesehen wurde, anschloss.

Noch während der Erarbeitung des public statements (PS) des HMPC (HMPC, 2014) veröffentlichte das Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) im Juli 2013 Analyseergebnisse zum Vorkommen von PA in Lebensmitteltees (einschl. einiger Arzneitees) (BfR, 2013). Die Problematik der Verunreinigungen von arzneilich genutzten Pflanzen durch PA wurde daraufhin schon in der HMPC-Publikation (HMPC, 2014) adressiert und zeitgleich auch durch das Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte (BfArM) mit den entsprechenden Industrieverbänden in Deutschland diskutiert. Daraufhin wurden von den Industrieverbänden bzw. ihren Mitgliedern erste Schritte zur Überprüfung des Problems (Datensammlung) eingeleitet bzw. auch der schon mit Maßnahmen zur Reduktion der PA-Belastung in pflanzlichen Arzneimitteln begonnen.

Nach intensiven Diskussionen sowohl mit den Industrieverbänden, aber auch auf europäischer Ebene, veröffentlichte das BfArM als erste europäische Behörde am 1. März 2016 eine Bekanntmachung, in der für alle pflanzlichen Arzneimittel als Übergangsmaßnahme ein maximaler Grenzwert von 1,0 µg PA täglich eingeführt wurde (BfArM, 2016). Später wurde vom BfArM klargestellt, dass die Übergangszeit voraussichtlich nicht länger als 3 Jahre dauern wird und danach der Grenzwert in Übereinstimmung mit den Empfehlungen des HMPC und der EFSA 0,35 µg/Tag betragen soll (HMPC, 2016). Am 22. März 2016 schlossen sich die Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit GmbH (AGES) und am 06. April 2016 die UK Medicines and Healthcare Products Regulatory Agency (MHRA) der Bewertung durch das BfArM an (HMPC, 2016). Vorausgegangen war, dass auch in anderen europäischen Ländern Hinweise auf erhöhte PA-Gehalte in pflanzlichen Arzneimitteln gefunden worden waren (MHRA, 2016).

Flankierend zu diesen nationalen Maßnahmen wurde im HMPC ein PS zu dem Problem der Kontamination pflanzlicher Arzneimittel mit PA erarbeitet (HMPC, 2016). Dieses wurde am 31. Mai 2016 angenommen und publiziert. In Bezug auf die Grenzwerte und die Gültigkeitsdauer steht es in Übereinstimmung mit den Bewertungen des BfArM. Im PS werden beispielhaft Pflanzen mit bekannt gewordenen hohen Kontaminationen genannt, es ist jedoch darauf hinzuweisen, dass entsprechend der nationalen Regelungen diese Aufzählung nicht abschließend ist.

Der Grenzwert ist dabei präparaspezifisch umzusetzen, d. h. es ist u. a. von der Tagesdosis, der Anzahl der pflanzlichen Inhaltsstoffe (arzneilich wirksam und/oder Hilfsstoffe) etc. abhängig, welcher PA-Gehalt in den Ausgangsdrogen bzw. den daraus hergestellten pflanzlichen Zubereitungen enthalten sein darf. Fertigarzneimittel, bei denen für Erwachsene der gegenwärtige maximale Grenzwert von 1 µg in der maximalen Tagesdosis entsprechend Dosierungsanleitung nicht eingehalten werden kann, sind in Deutschland nicht verkehrsfähig.

Für alle am 01.03.2016 auf dem Markt befindlichen pflanzlichen Arzneimittel waren die Zulassungsinhaber verpflichtet, die Prüfung auf PA (entweder in der Ausgangsdroge, der pflanzlichen Zubereitung oder dem Fertigarzneimittel) in die Prüfschritte aufzunehmen und die entsprechenden Spezifikationen zu ändern. Dies war dem BfArM im Rahmen einer Änderungsanzeige anzuzeigen.

Für Zulassungen und Registrierungen, die nach dem 01.03.2016 in Deutschland beantragt wurden, waren die Unterlagen schon vor der Zulassung bzw. Registrierung vorzulegen.

Mit der Publikation des PS aus 2016 beantragte der HMPC auch die Erarbeitung einer PA-Analysemethode für das Europäische Arzneibuch (Ph. Eur.). Im März 2017 wurde eine Arbeitsgruppe aus 14 Experten aus 8 verschiedenen Mitgliedsstaaten beim Europäischen Direktorat für die Qualität von Arzneimitteln (EDQM), das für die Erstellung der Ph. Eur. zuständig ist, eingerichtet, die eine solche Methode zur Bestimmung sehr geringer Gehalte erarbeiten sollte. Im Dezember 2019 erfolgte die Veröffentlichung eines Entwurfs dieser allgemeinen Methode (2.8.26) in der Pharmeuropa 32.1 zur Kommentierung. Die Vorschrift erlaubt die Anwendung jedes chromatografische Verfahrens, das in Verbindung mit MS/MS oder hochauflösender MS ausgeführt wird und die in der Vorschrift selbst festgelegten Validierungsanforderungen erfüllt (COUNCIL OF EUROPE; 2019). Dieser Ansatz wurde gewählt, weil es beträchtliche Unterschiede in der Zusammensetzung und den Matrizes der betreffenden Materialien sowie in den geltenden Grenzwerten gibt, was es schwierig macht, alle Methoden zu beschreiben, die für die quantitative Analyse der Pyrrolizidin-Ziel-Alkaloide geeignet sind. Ebenfalls wird ein beispielhaftes Analyseverfahren, das sich für die Bestimmung der 28 Pyrrolizidin-Ziel-Alkaloide (s. Tab. 1) in einer Reihe von Matrizes als geeignet erwiesen hat, beschrieben. Auch Verifikationsanforderungen, die erfüllt werden müssen, wenn es notwendig ist, nachzuweisen,

dass das verwendete Analyseverfahren während der Routineanalyse gültig bleibt, werden erläutert.

In der Sitzung im Januar 2019 hat der HMPC die Übergangsfrist für die vorläufigen Grenzwerte noch einmal um zwei Jahre verlängert (HMPC, 2019), um in dieser Zeit eine abschließende Bewertung im Rahmen der neuen Publikationen zu PA und der Erstellung der allgemeinen Methode der Ph. Eur. vornehmen zu können.

Aktivitäten von Anbauern und Herstellern

Begleitend zu den regulatorischen Maßnahmen wurden von Seiten der Industrieverbände verschiedene Forschungsprojekte und die Errichtung einer Datenbank initiiert, in die Daten einer Reihe von Anbauern und Herstellern einfließen. Diese Datenbank wird dem BfArM und dem HMPC regelmäßig vorgelegt, wobei darauf hinzuweisen ist, dass entsprechend der zusätzlichen Informationen sowohl die Teilnahme an der Datenbank, als auch die Auswahl der gemeldeten Chargen den Firmen überlassen ist. Offenbar scheint dann noch einmal eine Auswahl der Chargen stattzufinden, da die Chargen als „90th percentile“ angegeben werden.

Die Umrechnung, um die Chargen in die Kategorien entsprechend der Bekanntmachung des BfArM (BfArM, 2016) einordnen zu können, erfolgt dann auf die Vorgaben der Dosierung der Monografien des HMPC. Dabei geht jedoch nicht immer eindeutig aus den Meldungen hervor, ob die entsprechenden Chargen wirklich Monografiekonform eingesetzt wurden, oder nicht u.U. als sonstiger Bestandteil, in Kombinationspräparaten, Kosmetika oder Nahrungsergänzungsmitteln mit jeweils entsprechend unterschiedlichen Dosierung eingesetzt wurden. Daher müssen die Ableitungen, die in verschiedenen Publikationen z.B. STEINHOFF, 2019 zu Aussagen bezüglich der möglichen technisch realisierbaren Grenzwerte führen, vorsichtig interpretiert werden und lassen für die Behörden keine regulatorisch relevanten Rückschlüsse zu.

Tab. 1. Pyrrolizidinalkaloide für die PA-Analytik entsprechend des Entwurfs der Ph. Eur. Monografie

Echimidin + Echimidin N-oxid	Monocrotalin + Monocrotalin N-oxid
Erucifolin + Erucifolin N-oxid	Retrorsin + Retrorsin N-oxid
Europin + Europin N-oxid	Senecionin + Senecionin N-oxid
Heliotrin + Heliotrin N-oxid	Seneciphyllin + Seneciphyllin N-oxid
Intermedin + Intermedin N-oxid	Senecivernin + Senecivernin N-oxid
Jacobin + Jacobin N-oxid	Senkirkin
Lasiocarpin + Lasiocarpin N-oxid	Trichodesmin
Lycopsamin + Lycopsamin N-oxid	

Fazit

Am Beispiel der Kontamination pflanzlicher Arzneimittel mit PA kann gezeigt werden, dass neue Erkenntnisse zeitnah zu regulatorischen Maßnahmen durch die nationalen bzw. europäischen Behörden führen können. Da bei Arzneimitteln – anders als bei Lebensmitteln – eine Kontrolle des Marktzugangs möglich ist, können diese Maßnahmen auch zügig umgesetzt werden. Gleichzeitig wird auch deutlich, wie wichtig die enge Zusammenarbeit mit den Fachkreisen ist, um diese Maßnahmen transparent kommunizieren und begleiten zu können. Nur so kann sichergestellt werden, dass die betroffenen Arzneimittel weiterhin den Patienten zur Verfügung stehen.

Die bislang getroffenen landwirtschaftlichen Maßnahmen ermöglichen zwar eine teilweise Reduktion der Kontamination mit PA, womit das Problem aber voraussichtlich nicht vollständig gelöst werden kann. Daher sind weitere Konzepte und die Erhebung von Daten erforderlich um das Ziel einer weitgehenden Minimierung zu erreichen.

Interessenskonflikte


Die Autoren erklären, dass keine Interessenskonflikte vorliegen.

Literatur


- ANFZA (Australia New Zealand Food Authority), 2001: Pyrrolizidine alkaloids in food. A Toxicological Review and Risk Assessment. Technical Report Series No. 2. Zugriff: 10 Februar 2020, URL: <https://www.foodstandards.gov.au/publications/documents/TR2.pdf>.
- BfArM (Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte), 2016: Bekanntmachung zur Prüfung des Gehalts an Pyrrolizidinalkaloiden zur Sicherstellung der Qualität und Unbedenklichkeit von Arzneimitteln, die pflanzliche Stoffe bzw. pflanzliche Zubereitungen oder homöopathische Zubereitungen aus pflanzlichen Ausgangsstoffen als Wirkstoffe enthalten. Bonn: BfArM; 1 März 2016. Zugriff: 10 Februar 2020, URL: <https://www.bfarm.de/SharedDocs/Bekanntmachungen/DE/Arzneimittel/besTherap/bm-besTherap-20160301-pa.pdf.html>.
- BfR (Bundesinstitut für Risikobewertung), 2013: Pyrrolizidinalkaloide in Kräutertees und Tees. Stellungnahme 018/2013 des BfR vom 5 Juli 2013. Zugriff: 10 Februar 2020, URL: <https://mobil.bfr.bund.de/cm/343/pyrrolizidinalkaloide-in-kraeutertees-und-tees.pdf>.
- BGA (Bundesgesundheitsamt), 1992: Bekanntmachung über die Zulassung und Registrierung von Arzneimitteln vom 05. Juni 1992 Abwehr von Arzneimittelrisiken – Stufe II, hier: Arzneimittel, die Pyrrolizidin-Alkaloide mit einem 1,2-ungesättigtem Necin-Gerüst enthalten. Bundesanzeiger Nr. 111 vom 17. Juni 1992.
- CHEN, L., A. PELJENBURG, L. DE HAAN, I.M.C.M. RIETJENS, 2019: Prediction of in vivo genotoxicity of lasiocarpine and riddelliine in rat liver using a combined in vitro-physiologically based kinetic modelling-facilitated reverse dosimetry approach. *Archives of toxicology* 3 (8), 2385–2395, DOI: 10.1007/s00204-019-02515-5.
- COUNCIL OF EUROPE, 2019: Ph. Eur. seeks feedback on new general chapter on pyrrolizidine alkaloids. Zugriff: 10 Februar 2020, URL: <https://www.edqm.eu/en/news/ph-eur-seeks-feedback-new-general-chapter-pyrrolizidine-alkaloids>.
- CULVENOR, C.C., 1983: Estimated intakes of pyrrolizidine alkaloids by humans. A comparison with dose rates causing tumors in rats.

- Journal of Toxicology and Environmental Health 11 (4–6), 625–635, DOI: 10.1080/15287398309530372.
- EFSA (European Food Safety Authority), 2011: Scientific Opinion on Pyrrolizidine Alkaloids in Food and Feed. EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM). *EFSA Journal* 9 (11), 2406, DOI: 10.2903/j.efsa.2011.2406.
- EMA (European Medicines Agency), 2015: ICH guideline M7(R1) on assessment and control of DNA reactive (mutagenic) impurities in pharmaceuticals to limit potential carcinogenic risk. Zugriff: 10 Februar 2020, URL: <https://www.ema.europa.eu/en/ich-m7-assessment-control-dna-reactive-mutagenic-impurities-pharmaceuticals-limit-potential>.
- HMPC (Committee on Herbal Medicinal Products), 2014: Public Statement on the Use of Herbal Medicinal Products Containing Toxic, Unsaturated Pyrrolizidine Alkaloids (PAs). Final. 24 November 2014. Zugriff: 10 Februar 2020, URL: https://www.ema.europa.eu/documents/public-statement/public-statement-use-herbal-medicinal-products-containing-toxic-unsaturated-pyrrolizidine-alkaloids_en.pdf.
- HMPC (Committee on Herbal Medicinal Products), 2016: Public Statement on contamination of herbal medicinal products/traditional herbal medicinal products with pyrrolizidine alkaloids – Transitional recommendations for risk management and quality control (EMA/HMPC/328782/2016). 31 May 2016. Zugriff: 10 Februar 2020, URL: https://www.ema.europa.eu/documents/public-statement/public-statement-contamination-herbal-medicinal-products-traditional-herbal-medicinal-products-pyrrolizidine-alkaloids_en.pdf.
- HMPC (Committee on Herbal Medicinal Products), 2019: HMPC meeting report on European Union herbal monographs, guidelines and other activities. The 86th HMPC meeting, held on 14–16 January 2019 (EMA/HMPC/26549/2019). 16 January 2019. Zugriff: 10 Februar 2020, URL: https://www.ema.europa.eu/documents/committee-report/hmpc-meeting-report-european-union-herbal-monographs-guidelines-other-activities-14-16-january-2019_en.pdf.
- MHRA (Medicines and Healthcare Products Regulatory Agency), 2016: Precautionary recall – six batches of St John's Wort Tablets. Zugriff: 10 Februar 2020, URL: <https://www.gov.uk/government/news/precautionary-recall-six-batches-of-st-johns-wort-tablets>.
- MOLYNEUX, R.J., D.L. GARDNER, S.M. COLEGATE, J.A. EDGAR, 2011: Pyrrolizidine alkaloid toxicity in livestock: a paradigm for human poisoning? Food additives & contaminants. Part A, Chemistry, analysis, control, exposure & risk assessment 28 (3), 293–307, DOI: 10.1080/19440049.2010.547519.
- MOREIRA, R., D.M. PEREIRA, P. VALENTÃO, P.B. ANDRADE, 2018: Pyrrolizidine Alkaloids: Chemistry, Pharmacology, Toxicology and Food Safety. *International Journal of Molecular Science* 19 (6), pii: E1668, DOI: 10.3390/ijms19061668.
- NCI (National Cancer Institute), 1978: Bioassay of lasiocarpine for possible carcinogenicity. Carcinogenesis Technical Report Series, 39 (NCI-CG-TR-39; HHEW Publication No. (NIH) 78-839). Zugriff: 10 Februar 2020, URL: <https://ntp.niehs.nih.gov/go/tr039>.
- NTP (National Toxicology Program), 2008: Final Report on Carcinogens – Background Document for Riddelliine. Zugriff: 10 Februar 2020, URL: <http://ntp.niehs.nih.gov>.
- STEINHOFF, B., 2019: Pyrrolizidine alkaloid contamination in herbal medicinal products: Limits and occurrence. *Food and Chemical Toxicology* 130, 262–266, DOI: 10.1016/j.fct.2019.05.026.
- USDA (United States Department of Agriculture), 2014: Weed Risk Assessment for *Heliotropium europaeum* L. (Boraginaceae) – European heliotrope. Animal and Plant Health Inspection Service, Version 1. Zugriff: 10 Februar 2019, URL: https://www.aphis.usda.gov/plant_health/plant_pest_info/weeds/downloads/wra/Heliotropium_europaeum.pdf.

© Der Autor/Die Autorin 2020.

 Dies ist ein Open-Access-Artikel, der unter den Bedingungen der Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz (CC BY 4.0) zur Verfügung gestellt wird (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.de>).

© The Author(s) 2020.

 This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.en>).

Nanina Tron¹, Georg Maier², Henning Schulte², Andrea Krämer^{1*}

NIRS basierte Detektion und Entfernung Pyrrolizidinalkaloid-haltiger Unkräuter aus Kulturpflanzen nach der Ernte – PA-NIRSort

NIRS-based detection and removal of pyrrolizidine alkaloid containing
weeds in crop plants after harvest – PA-NIRSort

Zusammenfassung

Pyrrolizidinalkaloide (PAs) sind lebertoxisch wirkende, sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe, die den Pflanzen zum Schutz vor Fraßfeinden dienen. In den letzten Jahren sind PAs verstärkt in den Fokus gerückt, da sie als ungewollte Beiernte besonders in Bio- und Kindertees zu dem Teil sehr hohen Alkaloid-Belastungen führten. Inzwischen wurden strenge PA-Grenzwerte vom Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte (BfArM) publiziert, denn Arzneipflanzen können mit PA-haltigen Unkräutern wie verschiedenen Kreuzkraut-Arten, Gemeinem Natternkopf, Ackervergißmeinnicht, Gewöhnlicher Hundszunge, Wasserdost oder Borretsch verunreinigt sein und so über Arznei- oder Aroma-Tees Menschen potenziell gefährden (BfArM, 2016). Durch diese strengen Grenzwerte genügen unter Umständen vier bis fünf PA-bildende Pflanzen des Gemeinen Greiskrauts (*Senecio vulgaris*) je Hektar Anbaufläche, um die Verkehrsfähigkeit einer Tonne Medizinaldroge zu gefährden. Dies zu verhindern erfordert eine engmaschige regelmäßige Feldkontrolle und mechanisches Unkrautentfernen, das unter ökonomischen Aspekten kaum realisierbar ist. Daher kommt einer, der Ernte nachgelagerten Qualitätskontrolle zum Entfernen potentieller PA-Beikräuter eine besonders wichtige Rolle zu.

Ziel des im März 2019 gestarteten, von der Fachagentur für Nachwachsende Rohstoffe (FNR) geförderten Verbundprojekts des Julius Kühn-Instituts Berlin (Institut für Ökologische Chemie, Pflanzenanalytik und Vorrats-

schutz) und des Fraunhofer-Institut für Optronik, Systemtechnik und Bildauswertung (IOSB) ist die Entwicklung einer leistungsfähigen Detektionsmethode auf Basis von Hyperspektral-Nah-Infrarot-Spektroskopie (hyperspektral-NIRS) zur Erkennung von Verunreinigungen durch PA-haltige Pflanzen(teile) im Erntegut von Arznei- und Gewürzpflanzen. In Kombination mit einer gekoppelten Sortiereinheit (beispielsweise über Druckluftimpulse) soll so eine Abtrennung unerwünschter und potentiell toxischer Beikräuter erzielt werden. Am Ende des Projektes soll ein Prototyp zur echtzeitfähigen Reinigung der Erntechargen verschiedener Arznei- und Gewürzpflanzen vorgestellt werden. Ähnliche Systeme sind bereits in der Kunststoff-Abfallsortierung bzw. der Qualitätskontrolle von Weinbeeren auf Basis des Oechsle-Grades etabliert (FREUND et al., 2015). Angestrebt wird ein Durchsatz von bis zu 1,5 t/h. Mit einer solchen automatisierten Sortiertechnik ließen sich die gesundheitlichen Risiken durch PA-verunreinigte Arzneipflanzenprodukte für die Anbauer und Verarbeiter von Arzneipflanzen ökologisch und ökonomisch effizient reduzieren. Dies würde auch eine Sicherung der qualitativ hochwertigen und konkurrenzfähigen Produktion pflanzlicher Arzneimittel in Deutschland bedeuten.

Erste Ergebnisse zeigen, dass eine Klassifizierung der Pflanzenarten mittels NIR-Spektroskopie zuverlässig möglich ist. Um solche Bildanalysen auch in Echtzeit durchführen zu können, werden die zu verarbeitenden Datenmengen mittels multifaktorieller Datenanalyse auf entscheidende spektrale Merkmale (Faktoren) reduziert.

Affiliationen

Julius Kühn-Institut (JKI), Institut für Ökologische Chemie, Pflanzenanalytik und Vorratsschutz, Berlin¹
Fraunhofer-Institut für Optronik, Systemtechnik und Bildauswertung (IOSB), Karlsruhe²

Kontaktanschrift

Dr. Andrea Krämer, Julius Kühn-Institut (JKI), Institut für Ökologische Chemie, Pflanzenanalytik und Vorratsschutz, Königin-Luise-Straße 19, 14195 Berlin, E-Mail: andrea.kraehmer@julius-kuehn.de

Zur Veröffentlichung angenommen

21. Februar 2020

Stichwörter: Nahinfrarotspektroskopie, Bildauswertung, Pyrrolizidinalkaloide, Arzneipflanzen, Gewürzpflanzen, Sortiertechnik, Reduktion PA-Belastung

Abstract

The general objective of the project is the development of an efficient sorting system based on hyperspectral near-infrared spectroscopy (NIRS) for the detection and separation of impurities by pyrrolizidine alkaloid (PA)-containing plant-derived contaminations in cultural plants, e.g. medicinal and aromatic plants. PAs are liver-toxic secondary metabolites that protect plants from predators and have drawn more attention in recent years after harmful concentrations were found in medicinal teas. By now, the German Federal Institute for Drugs and Medical Devices (BfArM) has published strict PA limit values because medicinal plants can be contaminated with PA-containing weeds such as various types of ragwort, groundsel, common viper's head, field forget-me-not, common dog's tongue, water-east or borage and thus, potentially endanger people with medicinal or aromatic teas (BfArM, 2016). Four to five PA-containing plants e.g. of *Senecio vulgaris* per hectare are sufficient to contaminate one ton of the drug by exceeding the critical value of maximum uptake of 0,007 µg PA/kg body weight per day published by HMPC.

The planned process will analyze fresh and dried plant material on a flat-conveyer using hyperspectral NIR spectroscopy to detect impurities in the crop. After identification, contaminants should be removed by a sorting technique, e.g. using compressed air pulses. Similar systems have already been established in plastic waste sorting and quality control, for example for grapes (FREUND et al., 2015). The aim is to achieve a high throughput of up to 1.5 t/h with such an automated sorting technology, the health risks posed by PA-contaminated medicinal plant products could be reduced ecologically and economically efficient for cultivation and processing of medicinal plants. This would also mean safeguarding high-quality and competitive plant-derived drug production in Germany.

First results show that a classification of target plant species and contaminating groundsel using NIR spectroscopy succeeds for various medicinal plants. To be able to carry out such image analyses in real-time, the amount of data to be processed will be reduced to the decisive factors using multifactorial data analysis.

Key words: near infrared spectroscopy, image analysis, pyrrolizidine alkaloids, medicinal plants, aromatic plants, sorting technology, reduction of PA-contamination

Einleitung

Pyrrolizidinalkaloide (PAs) aus unterschiedlichen Pflanzenarten können vom Menschen mit der Nahrung (z.B.

Arznei- und Gewürzpflanzenprodukte) aufgenommen werden. Es wird angenommen, dass die PA-Abbauprodukte im Körper eine leber-toxische Wirkung entfalten und in hoher Dosierung sogar zu tödlichen Leberfunktionsstörungen führen können. Das Krankheitsbild der PA-Vergiftung wird in der Veterinärmedizin als „Seneziose“ beschrieben und wird in der Regel durch einen mehr oder weniger starken Greiskraut-/Kreuzkrautbestand auf Weiden verursacht. Im Bereich des Arznei- und Gewürzpflanzenanbaus treten PA-bildende Pflanzen als Ackerunkräuter auf und können über Mitbeerntung ungewollt in das Erntegut gelangen.

Zurzeit besteht noch kein brauchbarer Ansatz, um die PA-Kontaminations-Problematik der ungewollten Beiernte zufriedenstellend lösen zu können. Auch die im Rahmend es Code-of-Practice vorgeschlagene verstärkte analytische Kontrolle einzelner Produktionschargen wird nicht die gewünschte Sicherheit liefern können, da sich aufgrund der inhomogenen Verteilung von PA-Pflanzenbestandteilen im Erntegut die Probenahme nur begrenzt reproduzierbar durchführen lässt (BfARM und BPI, 2016). Von der Europäischen Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA) und dem BfR wurde daher empfohlen, sich behelfsmäßig an dem bestehenden Probenahmeverfahren für die amtliche Kontrolle des Mykotoxingehalts von Lebensmitteln zu orientieren (EU, 2006).

Da es momentan außer der manuellen Feldhygiene keine praktikablen Alternativen gibt, um PA-haltige Unkräuter im Feld und somit eine mögliche Mitbeerntung zu vermeiden, steht eine der Ernte nachgelagerte Reinigung im Fokus aktueller Vermeidungsstrategien. Ziel des hier vorgestellten Projekts ist es daher, ein leistungsfähiges Sortiersystem für Arzneipflanzen zu entwickeln, das PA-Unkräuter (und ggf. auch andere Fremdbestandteile) in effizienter Weise aus dem Erntegut abtrennt. Dazu soll mittels Hyperspektral-Nahinfrarotspektroskopie eine Detektionsmethode entwickelt werden, die PA-haltige Pflanzen oder Pflanzenteile im Erntegut zuverlässig erkennt. In der Literatur gibt es bereits umfassende Beispiele zum erfolgreichen Einsatz von (Nah)Infrarot- und Raman-Spektroskopie zur Unterscheidung von Pflanzenarten, Akzessionen und Chemotypen gleicher Art (NAUMANN et al., 2014; GUDI et al., 2014; 2015). Über Druckluftimpulse sollen die Kontaminationen dann aus dem Produkt, welches über Förderbänder zunächst die NIR-Kamera passiert, entfernt werden. Ähnliche Systeme aus optischer Detektion und druckluftgesteuerter Selektion kommen bereits für die Reinigung verschiedenster Produkt- (Weinbeersortierung nach Grad Öchsle) und Abfallgemische (Kunststoffgemische im Recyclingprozess) zum Einsatz, so dass die technischen Voraussetzungen zur Produktion entsprechender Sortieranlagen prinzipiell gegeben sind. Durch die Vielfalt der potentiell belasteten Arzneipflanzenkulturen und kontaminierenden PA-Beikräuter, sowie unterschiedlicher Probenzustände (Frischmaterial, Drogen, unterschiedliche Materialgrößen...) sind individuelle NIRS-Modelle für die Erkennung von PA-Beikrautbesatz in den jeweiligen Zieldrogen erforderlich. Da im Rahmen

dieses Projektes nicht für alle Kombinationen aus Arzneipflanzen und potentiell PA-Bildner Sortiermethoden entwickelt werden können, werden zunächst ausgewählte Kulturen mit hohem Anbauvolumen und deren hauptsächlichliche PA-Kontaminanten untersucht. Dazu wurden Melisse (*Melissa officinalis* L.), Pfefferminze (*Mentha × piperita* 'Multimentha') und Brennnessel (*Urtica dioica*) von der Industrie als wichtige Kulturen benannt. Für diese Kulturen wurde im Rahmen des ebenfalls vom BMEL und der FNR geförderten Projektes zur „Erfassung der standortabhängigen und kulturpflanzen-spezifischen Beikrautflora in Arzneipflanzenbeständen unter besonderer Berücksichtigung Pyrrolizidinalkaloid-(PA-) haltiger Unkräuter und Erstellung einer PA-Unkrautdatenbank“ (FNR-Förderkennzeichen 22007914) das Gemeine Greiskraut (*Senecio vulgaris*) als hauptsächlichlicher PA-Bildner mit sehr hohen PA-Gehalten für die oben benannten Zielkulturen identifiziert (NITZSCHE et al., 2018). Da Greiskraut zudem in den drei oben benannten Arzneipflanzen der häufigste PA-Bildner im Feld ist, wurde in den hier vorgestellten Untersuchungen zunächst nur dieses berücksichtigt.

Mit dem Forschungsvorhaben soll sichergestellt werden, dass der Arzneipflanzenanbau in Deutschland auch zukünftig gesundheitlich unbedenkliche und konkurrenzfähige Produkte mit hoher Qualität liefern kann, die dem Verbraucher dann in Form von Arzneitees oder pflanzlichen Arzneimitteln zur Verfügung gestellt werden können. Daher sollen mit Hilfe von Hyperspektral-NIR-Imaging (deutsch: Hyperspektrale Bildanalyse) im kurzwelligen Infrarotbereich (SWIR: 1.000 bis 2.500 nm) und entsprechender qualitativer NIR-Klassifikationen (Modelle) PA-Pflanzen schnell und zerstörungsfrei von den geernteten Arzneipflanzen bzw. Drogen diskriminiert werden. Dies bringt insgesamt eine deutliche Qualitätsverbesserung der jeweiligen pflanzlichen Drogen mit sich, da neben den PA-Kontaminanten auch andere Fremddanteile auf ein Minimum gesenkt werden könnten.

Wie sowohl die bisherigen spektroskopischen Einzelmessungen, als auch die gemischte Probenapplikation zur hyperspektralen Bildanalyse zeigen, lassen sich die jeweiligen Arzneipflanzenblätter von denen der PA-Pflanzen unterscheiden. Nun müssen relevante Spektralbereiche, die hauptsächlich zu dieser Unterscheidung führen, mittels multifaktorieller Datenanalyse identifiziert werden, um die Datenmengen auf echtzeitfähige Analyse reduzieren zu können. Erste Ergebnisse aus den Modellversuchen werden vorgestellt und diskutiert.

Material und Methoden

Melisse (*Melissa officinalis* 'Erfurter Aufrechte' und 'Lorelei') & Pfefferminze (*Mentha × piperita* 'Multimentha')

Die Pflanzen wurden über das JKI Quedlinburg (Dr. Frank Marthe, Institut für Züchtungsforschung an gartenbaulichen Kulturen, Erwin-Baur-Str. 27, 06484 Qued-

linburg) im Gewächshaus angezogen und am 12.06.2019 auf dem Versuchsfeld des JKI Berlin (52.516181, 13.376935) ins Freiland ausgepflanzt.

Große Brennnessel (*Urtica dioica*)

Aus dem Wildbestand des JKI Berlin wurden 12 Pflanzen vereinzelt und am 12.06.2019 ebenfalls ins Versuchsfeld des JKI Berlin ausgepflanzt.

Gemeines Greiskraut (*Senecio vulgaris*)

Aus dem Versuchsfeld des JKI Berlin wurde Saatgut wilder Greiskraut-Pflanzen entnommen und diese nach Aussaat und Anzucht der Pflanzen im Gewächshaus in Töpfen ins Freiland gesetzt (Aussaart 07.06.2019, Pikieren 25.06.2019, Ausbringen 09.07.2019), um möglichst gleiche Umweltbedingungen für alle Versuchspflanzen zu erzielen. Diese Maßnahme diente dazu, die Pflanzen für die Messungen in Gesamtheit und unverletzt ins Labor transportieren zu können und über die Ontogenese der Pflanzen immer wieder dasselbe, markierte Blatt zu messen. So soll die inhaltstoffliche und spektrale Varianz über die Entwicklung abgebildet werden.

Probenset und Probenvorbereitung

Das Pflanzenmaterial für die Messungen wurde am JKI Berlin in Beeten, sowie am Fraunhofer IOSB in Karlsruhe in Containern kultiviert. Beerntet wurden die Arzneikulturen zweimalig jeweils zu Beginn der Blüte (Schnitthöhe ca. 15 cm). Die NIR-Messungen wurden jeweils am gleichen Tag im Anschluss an die Ernte durchgeführt. Um eine möglichst vergleichbare Wasserversorgung der Proben zu gewährleisten, wurden die geernteten Triebe von Melisse, Brennnessel und Pfefferminze direkt nach der Ernte in Wasser gestellt und anschließend im Verlauf einer Stunde gemessen. Für Melisse, Pfefferminze wurden jeweils 24 und für Brennnessel 12 Einzelpflanzen zu zwei verschiedenen Terminen beerntet. Je Einzelpflanze wurden 5 Blätter unterschiedlichen Alters für die Analytik ausgewählt (Melisse und Pfefferminze je $N = 24/n = 240$, Brennnessel $N = 12/n = 120$) und danach einzeln zum Trocknen ausgelegt. Die restliche Proben wurden ebenfalls getrocknet und die so erhaltenen Drogen anschließend für zukünftige Messungen in Papiertüten bei Raumtemperatur im Dunkeln gelagert. Für das Greiskraut wurde an 20 Einzelpflanzen jeweils dasselbe Blatt täglich über den Vegetationszeitraum von 2 bis 4 Wochen (erste voll ausgebildete Blätter bis Abblühen) mittels NIRS untersucht ($N = 20/n = 279$; 2–4 Wochen).

FT-NIR-Messungen

Die Probenblätter wurden einzeln auf das Messfenster des FT-NIR-Spektrometers (MPA, Bruker Optik GmbH, Ettlingen, Deutschland) gelegt und mit einem Edelstahlstempel leicht beschwert, um die Fläche möglichst gleichmäßig anzupressen. Vor jeder Messserie wurde ein Hintergrundspektrum aufgenommen. Die Proben wurden in Transflexion mit 32 Scans je Spektrum im Wellenzahlbereich von $12.500 - 3.600 \text{ cm}^{-1}$ und einer spektralen Auflösung von 8 cm^{-1} gemessen. Alle Messungen fan-

den im Zeitraum von Juni bis August 2019 am JKI Berlin statt. Je Pflanzenart wurden insgesamt 240 bzw. 120 Blätter in einfacher Messung untersucht. Für die Untersuchung spektraler Veränderungen infolge der pflanzlichen Entwicklung wurden für die Arzneikräuter und das Greiskraut NIR-Spektren von 20 Blättern in einfacher Messung und je nach Entwicklungsstand der Pflanzen mit je 12 bis 18 Wiederholungsmessungen über den Entwicklungszeitraum von 2 bis 4 Wochen aufgenommen. Dazu wurde das Blatt nicht von der Pflanze entfernt sondern die gesamte (getopfte) Pflanze für den Transfer ins Labor und die Messungen aus dem Versuchsfeld entnommen und anschließend wieder ins Freiland verbracht.

Statistische Datenauswertung

Für die Auswertung der Spektren wurde die OPUS Spektroskopie Software Version 7.2 (Bruker Optik GmbH, Ettlingen, Deutschland) verwendet. Alle spektralen Daten wurden vor der weiteren Auswertung zentriert und die PCAn über das QUANT-Modul für PLS-Regressionen in OPUS 7.2. erstellt.

Hyperspektral-NIRS-Klassifikation

Die Hyperspektral-NIRS(HSI)-Aufnahmen wurden an einer Kamera des Typs Specim NIR über den Wellenlängenbereich von 906–2514 nm ($11.037 - 3.977 \text{ cm}^{-1}$) eingeteilt in 256 Kanäle (spektrale Auflösung 6,28 nm) aufgenommen. Die Proben wurden auf einem Lineartisch unter dem zeilenscannenden Sensor durchgefahren und somit eine flächige Aufnahme erzeugt. Die resultierenden Bilder haben eine Größe von 600x320 Pixeln. Parallel zu den HSI Aufnahmen wurden RGB Aufnahmen (665/525/470 nm) in der Größe von 1366x1376 ebenfalls über einen zeilenscannenden Sensor gewonnen. Die Aufnahmen werden um Meta-Informationen, z.B. Alter der Blätter, Erntezeitpunkt, enthaltene Sorten, ergänzt und in einer Datenbank archiviert. Für die Datenauswertung wurde die Programmiersprache Python und insbesondere die Bibliothek scikit-learn verwendet.

Ergebnisse und Diskussion

Versuchspflanzen

Gemeinsam mit den Projektpartnern aus der Industrie wurden Melisse (*Melissa officinalis* L.), Pfefferminze (*Mentha × piperita* ‘Multimentha’) und Brennnessel (*Urtica dioica*) als erste Zielkulturen ausgewählt. Die Ergebnisse aus dem Verbundvorhaben „Erfassung der standortabhängigen und kulturpflanzen-spezifischen Beikrautflora in Arzneipflanzenbeständen unter besonderer Berücksichtigung Pyrrolizidinalkaloid-haltiger Unkräuter; Teilvorhaben 1: Erfassung der Unkrautflora und Erstellung einer PA-Unkrautdatenbank“ (FKZ 22007914) zeigten die krautartigen Drogen aufgrund der Anbau- und Ernteverfahren als die Pflanzengruppe mit dem höchsten Risiko der Verunreinigung durch PA-Bildner (NITZSCHE et al., 2018). Quantitativ stärkster PA-Bildner im Feldanbau war bei allen drei Kulturen jeweils das

Gemeine Greiskraut (*Senecio vulgaris*) mit zudem höchsten PA-Gehalten. Daher wurde bei der Modellentwicklung im Rahmen dieses Projektes der Schwerpunkt zunächst auf diese Pflanzenarten gelegt und Systeme aus den Kulturen Melisse, Pfefferminze und Große Brennnessel mit dem Gemeinen Greiskraut als potentielle PA-Kontaminante ausgewählt.

Da das Gemeine Greiskraut in der Regel in allen Entwicklungsstufen als Beikraut in der Ernte auftreten kann und sich mehrfach im Jahr selbst aussät, wurde es im Topf verbleibend gemessen. So sollte ermittelt werden, ob das pflanzliche Wachstumsstadium in der Modellentwicklung berücksichtigt werden muss. Für die Zielkulturen wird zur Ernte ein entwicklungsmäßig eher einheitlicher Bestand unterstellt mit spektraler Variabilität der Blätter entlang der Sprossachse.

Spektren und spektrale Variabilität

Der Wahl geeigneter spektraler Bereiche für die Entwicklung leistungsfähiger Klassifikationsmodelle die sich im späteren realen Einsatz auch robust gegenüber variierender Probenbeschaffenheit zeigen, kommt eine besondere Bedeutung zu.

Wie der visuelle Vergleich der Probenspektren der drei Zielkulturen und des Greiskrauts zeigt, sind die NIR-Spektren aller vier Pflanzenarten prinzipiell recht ähnlich und vorwiegend von dominanten Wasserabsorptionen um 5.200 und 7.100 cm^{-1} gekennzeichnet. Abbildung 1 zeigt die entsprechenden Mittelwertspektren für die vier Pflanzenarten sowie die entsprechenden Spektren der zugehörigen Standardabweichungen. Auch hier zeigen die spektralen Bereiche der Wasserbanden die höchste Variabilität. Besonders im späteren realen Verarbeitungsprozess wird es z.T. starke Schwankungen im Wassergehalt der Proben geben, da nicht immer gewährleistet werden kann, dass die Proben der Qualitätsanalytik direkt als frisches Erntegut zugeführt werden. Zudem schwankt der Wassergehalt der Pflanzen im Feld auch im Tagesverlauf und in Abhängigkeit vom Entwicklungsstadium bzw. der Witterung. Besonders für importierte getrocknete Proben mit sehr niedrigem Restfeuchtegehalt sind diese Banden von geringerem diagnostischem Wert.

Daher wurden für die zu erstellenden Klassifizierungsmodelle die Bereiche der beiden sehr dominierenden Wasserbanden ($\sim 7.100 \text{ cm}^{-1}$ und $\sim 5.200 \text{ cm}^{-1}$) herausgenommen, um eine Klassifizierung basierend auf den Wassergehalt der Proben zu vermeiden. Für die Hauptkomponentenanalyse wurden somit die Spektralbereiche von $9.820-7.248 \text{ cm}^{-1}$, $6.245-5.373 \text{ cm}^{-1}$ und $4.710-3.822 \text{ cm}^{-1}$ zur Diskriminierung der Pflanzenarten verwendet.

Die Variabilität der verschiedenen Messreihen der Zielkulturen zeigt eine recht homogene Streuung der Einzelspektren (insgesamt 240 bzw. 120 individuelle Blätter) um das Mittelwertspektrum der individuellen Pflanzen und auch die beiden Ernten unterscheiden sich nur geringfügig in ihrer Varianz (Abb. 2, orange, grün, blau). Für die Spektren des Greiskraut hingegen zeigt sich eine deutlich breitere Streuung (Abb. 2, rot). Die Spektren

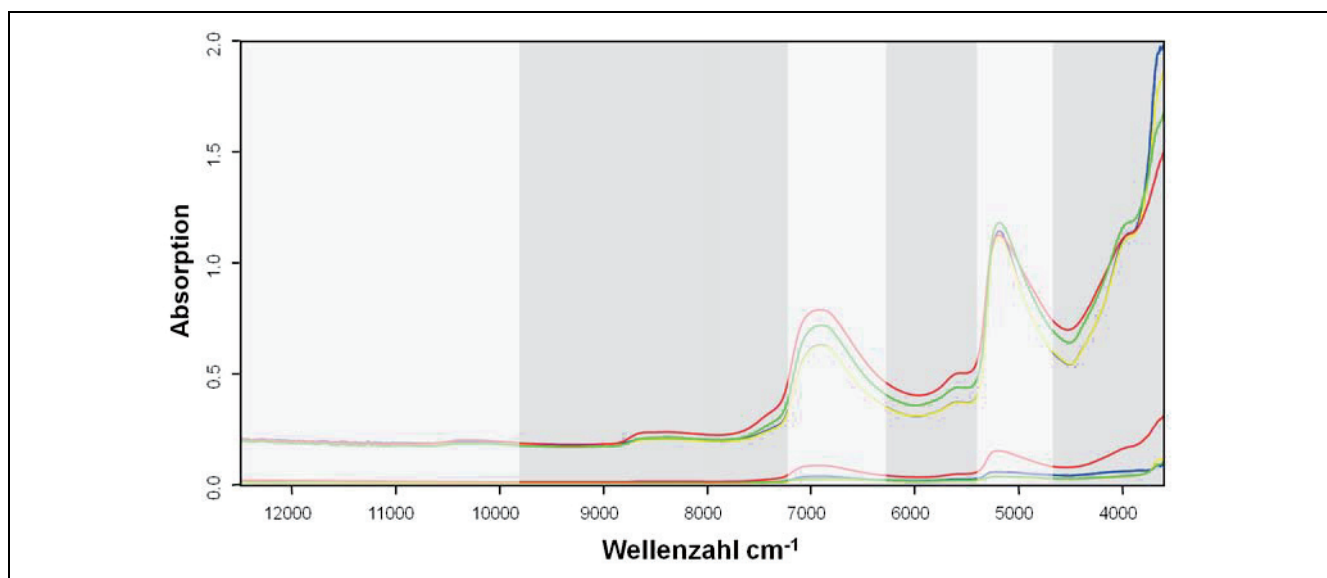


Abb. 1. Mittelwertspektren mit Standardabweichung. Je Art wurde über alle Messungen gemittelt (gelb = Melisse; grün = Pfefferminze; blau = Brennnessel; rot = Greiskraut). Die grau hinterlegten Bereiche ($9.820 - 7.248 \text{ cm}^{-1}$, $6.245 - 5.373 \text{ cm}^{-1}$ und $4.710 - 3.822 \text{ cm}^{-1}$) wurden für die weiteren Berechnungen ausgewählt.

Averaged spectra with standard deviation spectra. Average over all measurements for each species (yellow = lemon balm; green = peppermint; blue = nettle; red = groundsel). The grey areas ($9.820 - 7.248 \text{ cm}^{-1}$, $6.245 - 5.373 \text{ cm}^{-1}$ and $4.710 - 3.822 \text{ cm}^{-1}$) were selected for further calculations.

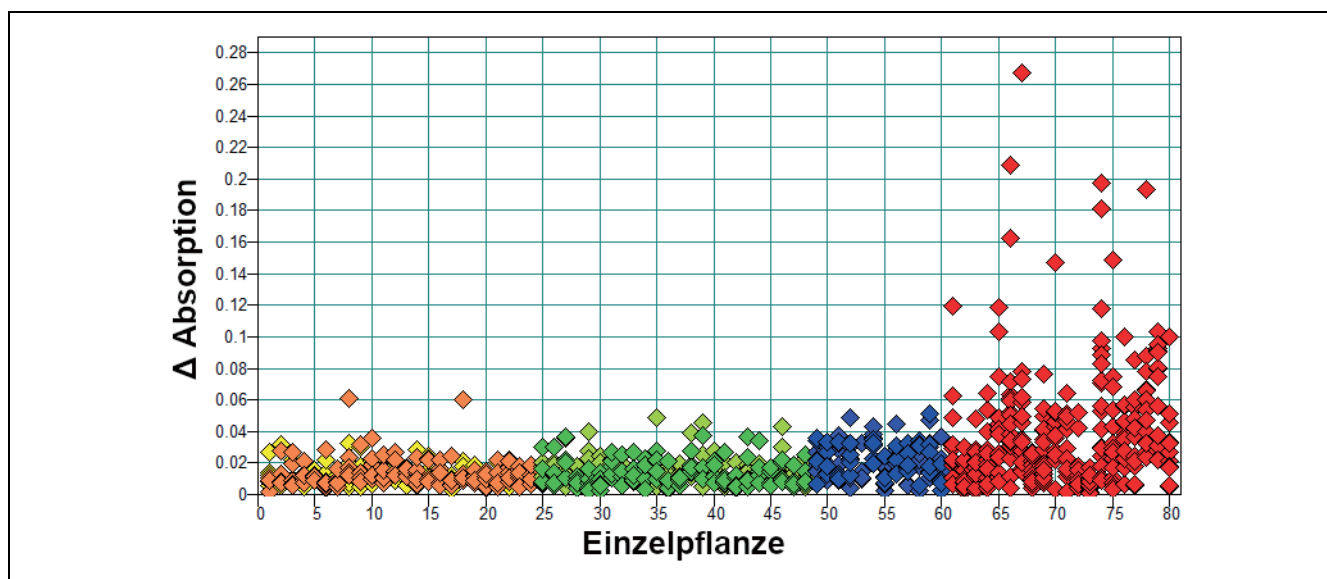


Abb. 2. Unterschied (RMS, root mean square) aller gemessenen Spektren um das jeweilige Mittelwertspektrum der Einzelpflanzen. Jede Probennummer steht für eine Einzelpflanze (EP), jeder Punkt für ein gemessenes Spektrum. Gemessen wurden je Ernte (E1 und E2) 5 Blätter pro EP bei den Zielkulturen und 12–18 Messungen pro Blatt an jeweils einer EP bei Greiskraut (gelb = Melisse E1; orange = Melisse E2; hellgrün = Pfefferminze E1; dunkelgrün = Pfefferminze E2; hellblau = Brennnessel E1; dunkelblau = Brennnessel E2; rot = Greiskraut).

Absorption differences (RMS, root mean square) of all measured spectra around the respective averaged spectrum of the individual plants. Each sample number stands for a single plant (EP), each point for a measured spectrum. The measurements per harvest (E1 and E2) were 5 leaves per EP in the target cultures and 12–18 measurements per leaf on each EP in groundsel (yellow = lemon balm E1; orange = lemon balm E2; light green = peppermint E1; dark green = peppermint E2; light blue = nettle E1; dark blue = nettle E2; red = groundsel).

mit größter Streuung sind alle Geiskrautpflanzen höheren Alters zuzuordnen, wo bereits erste Anzeichen von Welken zu beobachten war. (Messung > Tag 7). Ab Messung 10 ließen sich bereits farbliche Veränderungen der Blätter ins Gelbliche deutlich erkennen.

In der Einzelauswertung zeigte sich, dass die spektrale Variabilität auf Ebene der Pflanzenarten den größten Beitrag zur Gesamtvariabilität liefert, selbst wenn Einzelpflanzen und unterschiedliche Ernten berücksichtigt werden. Das bedeutet, Unterschiede innerhalb der Ein-

zelpflanzen und der beiden Ernten sind in allen untersuchten Arten geringer als die Unterschiede zwischen den Arten.

Da sich die Spektren beider Ernten der Zielkulturen nicht signifikant unterscheiden, wurde für die Berechnung der Mittelwertspektren je Arzneipflanzenart über alle Einzelmessungen gemittelt. Auch wenn sich beim Greiskraut doch eine deutlich größere Varianz der Spektren feststellen lässt, wurde auch hier über alle Messungen gemittelt (Abb. 1). Anhand der Differenzspektren von jeweils einer Zielkultur und Greiskraut kann man erkennen, dass sich außerhalb der Wasserabsorptionen in den für die PCA genutzten Bereichen spektrale Unterschiede für die Diskriminierung der Kulturen zeigen (Abb. 3).

Um im nächsten Schritt die Messreihen untereinander zu vergleichen, wurden zunächst alle Spektren pflanzenweise und in einem PCA-Modell betrachtet (Abb. 4). Für die Erstellung der Klassifikationsmodelle wurde dann im zweiten Schritt nur jeweils eine Zielkultur gemeinsam mit dem Greiskraut analysiert (Abb. 5).

Die Hauptkomponentenanalyse der Spektren aller Pflanzenarten (Abb. 4) zeigt eine klare Trennung der Zielkulturen vom Greiskraut. Geringe Überlagerungen der Cluster von Pfefferminze (grün) und Greiskraut (rot) gibt es nur bei der frühen Ernte E1. Auch hier lässt sich die große Streuung der Greiskraut-Spektren den Messungen in der späteren Pflanzenentwicklung zuordnen (> Messung 7, kreisförmige Markierung in Abb. 4). Die hier gezeigte PCA stellt einen Extremfall in der Klassifikation dar, da insgesamt vier Pflanzenarten in annähernd

gleicher Quantität in das Modell einfließen. Ein solcher Fall ist bei der realen Ernte nicht zu erwarten, dort sollte eine Kultur mengenmäßig dominieren und entsprechend den Ergebnissen der Unkrautdatenbank maximal ein PA-Beikraut in relevanter Menge auftreten. Daher werden im Folgenden binäre Systeme aus einer Zielkultur und Greiskraut betrachtet.

Im Weiteren wurden jeweils die einzelnen Zielkulturen und Greiskraut in einer Hauptkomponentenanalyse nach Zentrierung der Spektren analysiert, um die Möglichkeit einer deutlichen Diskriminierung nach Pflanzenart zu finden. Abb. 5 zeigt die entsprechenden Hauptkomponentenanalysen der drei Zielkulturen.

Wie in Abb. 5 (links) ersichtlich, trennt PC 1 die Spektren von Greiskraut (rot) klar von denen der beiden Melisse-Ernten (gelb) ab. Hauptkomponenten 2 (PC 2) trennt zudem die späten Greiskraut-Messungen (positiver Bereich von PC 2) ab. Die PCA von Brennessel und Greiskraut (Abb. 5, rechts) zeigt eine ebenso klare Trennung der beiden Pflanzenarten, wie zuvor bei der Melisse beobachtet und legt den Erfolg einer NIR-basierten Differenzierung der Ziel- und Beikrautkulturen auf Basis der verwendeten Spektralbereiche nahe.

Anders als bei Melisse und Brennessel zeigt die PCA bei Pfefferminze keine vollständige Clusterung beider Arten (Abb. 5, Mitte). Besonders die erste Ernte der Minze streut stärker und es finden sich Überlagerungen mit den Spektren des Greiskrauts. Hier ist eine genaue Betrachtung der Ursachen für die vergleichsweise hohe Streuung der Greiskraut-Proben nötig, um eventuell durch Eingrenzen der Spektralbereiche die Qualität der

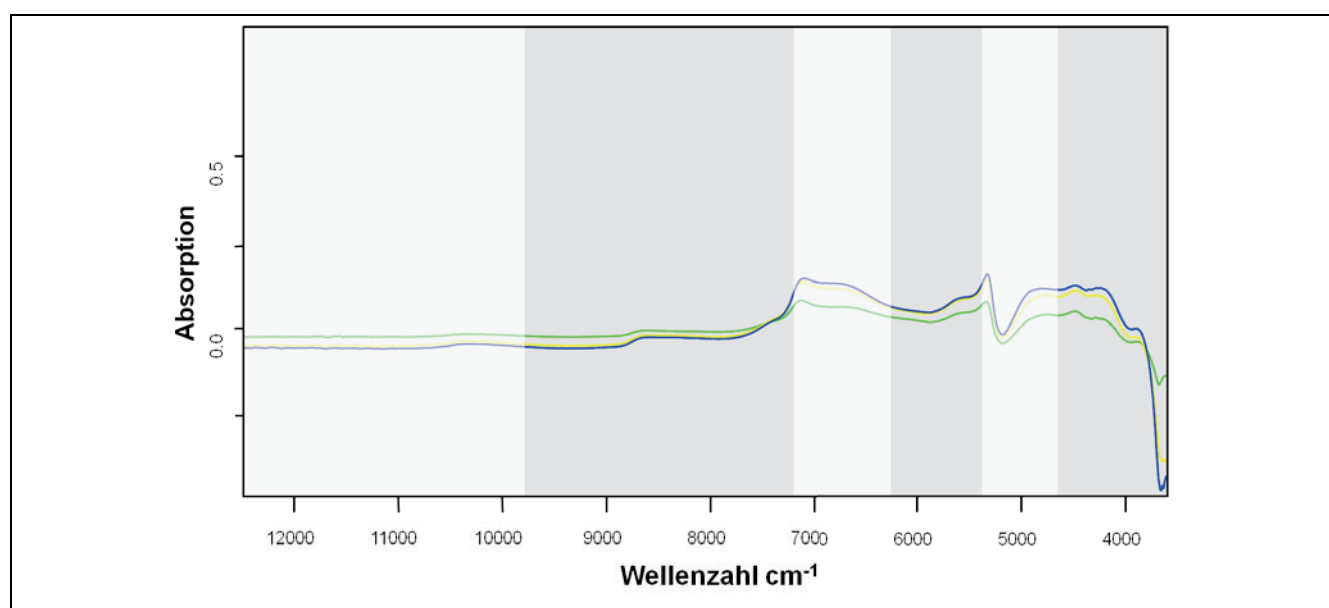


Abb. 3. Differenzen der Mittelwertspektren der drei Zielkulturen zu Greiskraut. Je Art wurde über alle Messungen gemittelt und vom Mittelwertspektrum des Greiskraut abgezogen (gelb = Melisse; grün = Pfefferminze; blau = Brennessel). Die grau hinterlegten Bereiche ($9.820 - 7.248 \text{ cm}^{-1}$, $6.245 - 5.373 \text{ cm}^{-1}$ und $4.710 - 3.822 \text{ cm}^{-1}$) wurden für die weiteren Berechnungen ausgewählt.

Differences spectra of the average spectra of the three target cultures to groundsel. Each species was averaged over all measurements and subtracted from the mean spectrum of groundsel (yellow = lemon balm; green = peppermint; blue = nettle). The grey areas ($9,820 - 7,248 \text{ cm}^{-1}$, $6,245 - 5,373 \text{ cm}^{-1}$ and $4,710 - 3,822 \text{ cm}^{-1}$) were selected for further calculations.

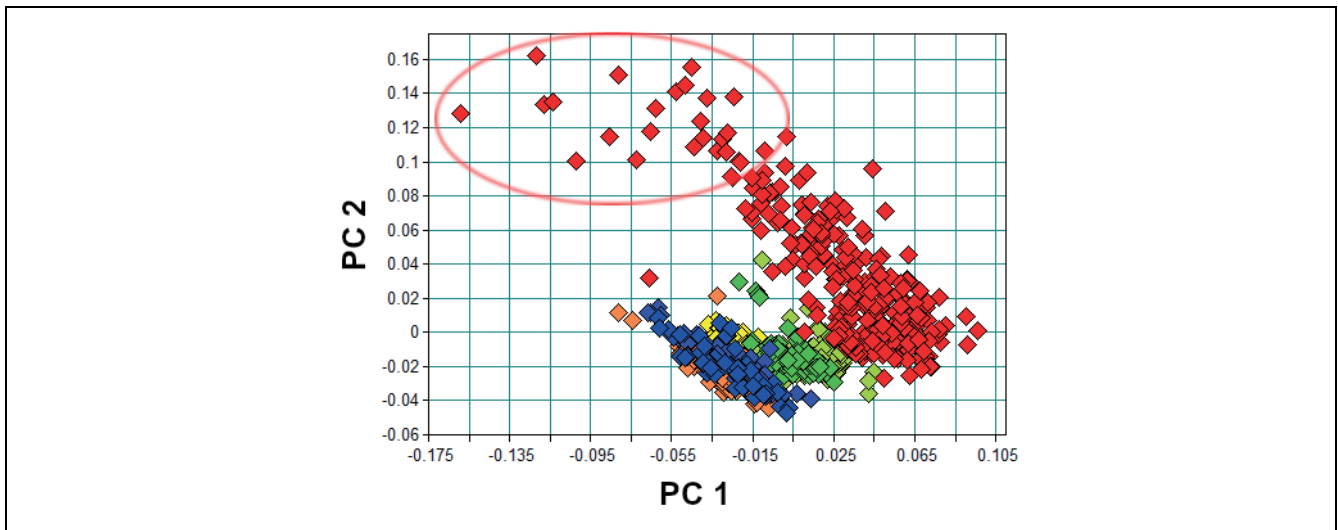


Abb. 4. PCA aller Messungen. Die Messungen im oberen Bereich (oval) sind Messungen zu einem späteren Zeitpunkt ($> M7$) der Ontogenese (gelb = Melisse E1; orange = Melisse E2; hellgrün = Pfefferminze E1; dunkelgrün = Pfefferminze E2; hellblau = Brennnessel E1; dunkelblau = Brennnessel E2; rot = Greiskraut, alle Altersstufen).

PCA of all measurements. The measurements in the upper area (oval) are measurements at a late developmental stage of groundsel ($> M7$) of ontogenesis (yellow = lemon balm E1; orange = lemon balm E2; light green = peppermint E1; dark green = peppermint E2; light blue = nettle E1; dark blue = nettle E2; red = groundsel, all ages).

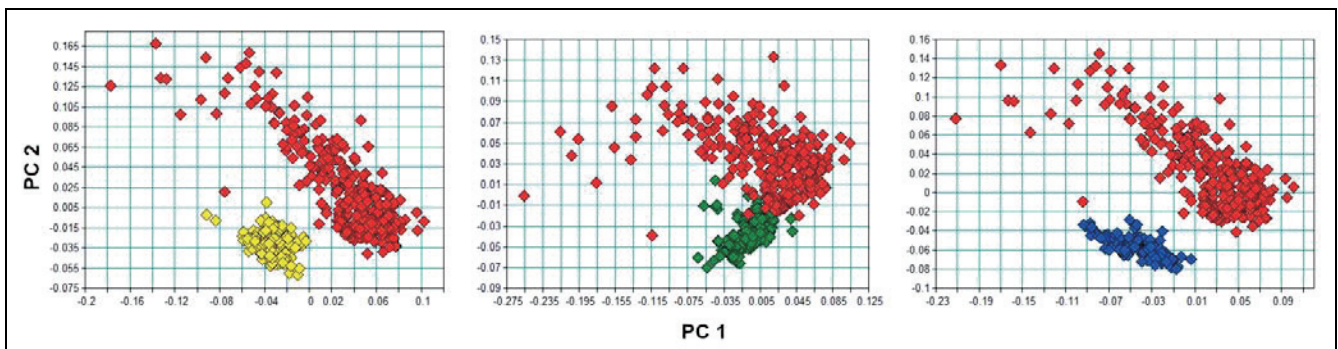


Abb. 5. PCA der drei Ziel- und Beikraut-Systeme. Links: Melisse (gelb) vs. Greiskraut (rot); Mitte: Pfefferminze (grün) vs. Greiskraut (rot) rechts: Brennnessel (blau) vs. Greiskraut (rot).

PCA of the three target vs. weed systems. Left: lemon balm (yellow) vs. groundsel (red); centre: peppermint (green) vs. groundsel (red) right: nettle (blue) vs. groundsel (red).

Diskriminierung zu erhöhen. Daher wird zunächst die Variabilität der Pfefferminz- und Greiskraut-Spektren im Lauf der pflanzlichen Entwicklung näher betrachtet.

Ontogenese

Um die spektrale Variabilität der Blätter über die pflanzliche Entwicklung abschätzen zu können, wurde exemplarisch an fünf Pfefferminzpflanzen über acht Wochen, einmal pro Woche dasselbe markierte Blatt gemessen. Jedes Blatt wurde in fünffacher Wiederholung gemessen und in der Analyse gemittelt. Die zu beobachtende Streuung um den Mittelwert des jeweils gemessenen Blattes zeigt keinen Zusammenhang mit dem Alter der Blätter (Abb. 6). In der Hauptkomponentenanalyse hingegen lässt sich ein Alterseinfluss beobachten (Abb. 7), so dass sich eine Gruppierung der Blattspektren nach Alter entlang der Hauptkomponentenachse zwei (PC 2) erkennen lässt.

Im Fall des Gemeinen Greiskrauts muss die Möglichkeit beachtet werden, alle Entwicklungsstadien der Pflanze (oberhalb der Erntehöhe) als Beiernte zu finden. Da sich im Laufe der Ontogenese von Pflanzen auch die Kombinationen und Konzentrationen der sekundären Pflanzenstoffe verändert (FLADE et al., 2019), was auch rein optisch durch Verfärbungen sichtbar werden kann, ist zu erwarten, dass sich entwicklungsbedingte Veränderungen auf die NIR-Spektren auswirken. Daher wurden über den entsprechenden Entwicklungszeitraum Spektren derselben Blätter aufgenommen, um die damit einhergehende spektrale Variabilität zu untersuchen. Die Messungen zeigen, dass mit steigendem Alter der Pflanzen die Spektren stärker streuen (Abb. 8). Ab der zehnten Messung (05.08.2019, Tag 59 nach Aussaat) waren bereits erste gelbliche Verfärbungen der Blätter zu erkennen, die einhergehen mit steigender Streuung in den Spektren ab der siebten Messung. Diese Unterschiede

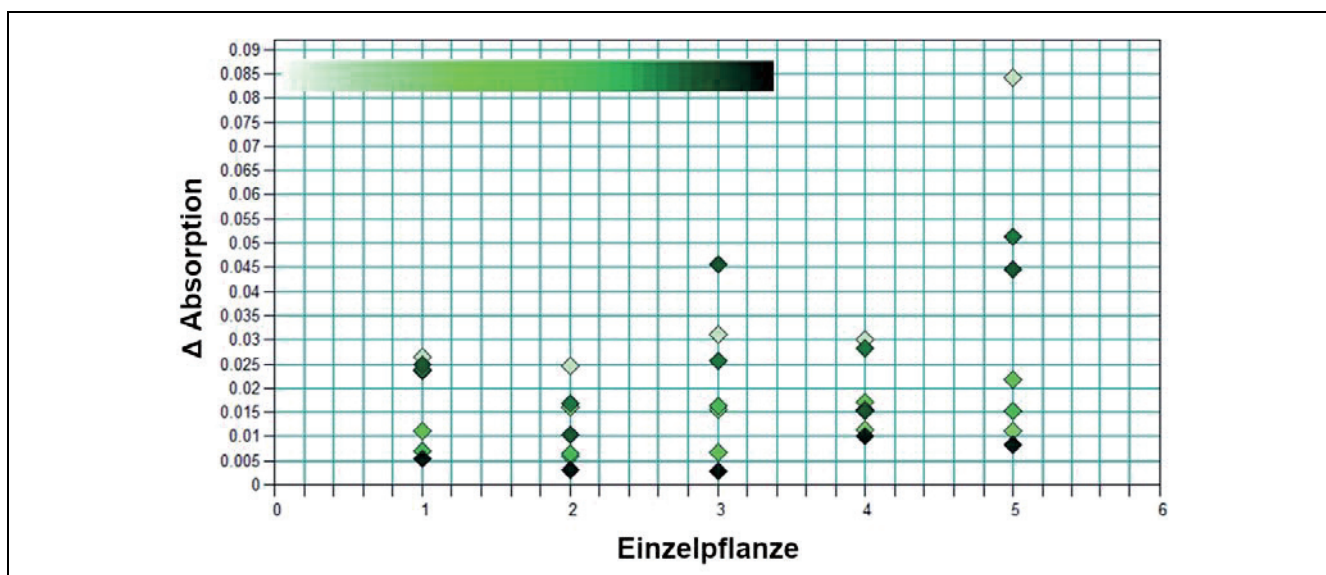


Abb. 6. RMS-Fehler (root mean square) der Spektren um das Mittelwertspektrum des jeweils gemessenen Blattes von Pfefferminze über Messreihen (M). Jeder Punkt für ein über fünf Wiederholungen gemitteltetes Spektrum des jeweiligen Blattes. Der Farbcode steht für die Messreihen 1–8 (jung: hell, alt: dunkel).

Absorption differences (RMS, root mean square) of the individual spectra to the average spectrum (leaf wise) of peppermint over the entire series of measurements. Each point represents an averaged spectrum of the respective leaf over five repetitions. The color codes the measurement series 1–8 (young: light, old: dark).

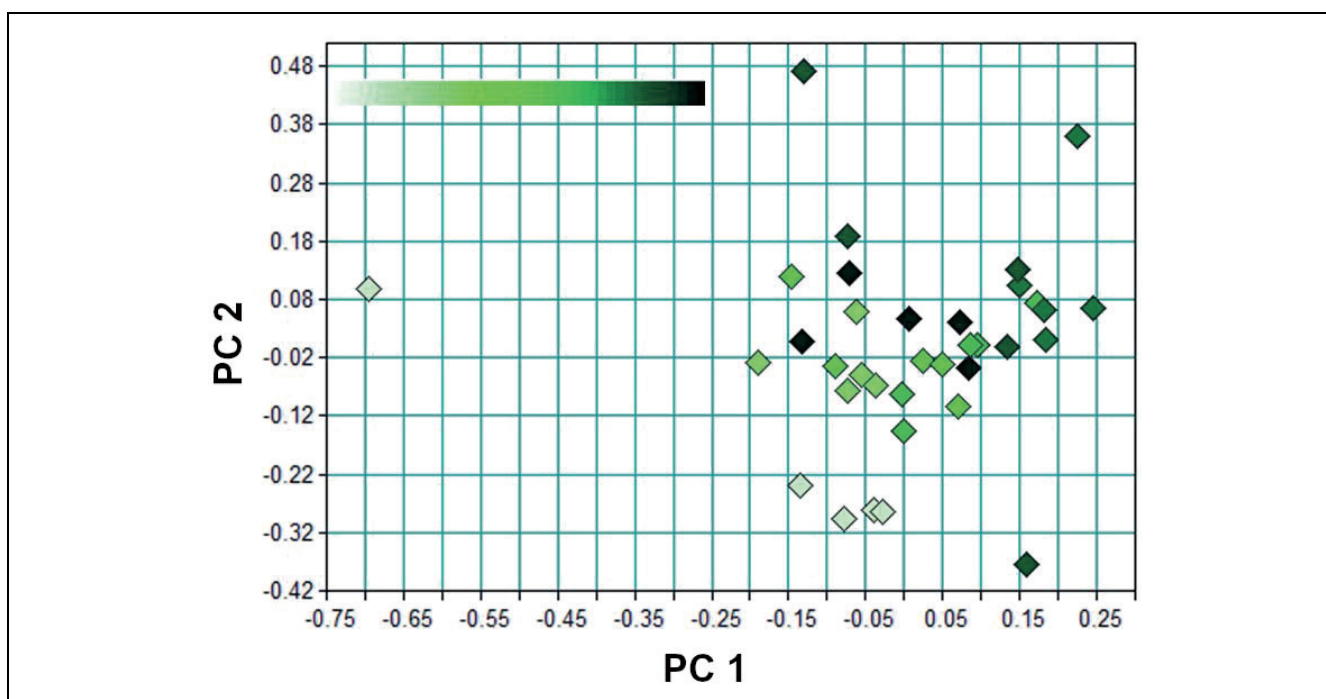


Abb. 7. PCA der Mittelwertspektren der gemessenen Blätter von Pfefferminze acht Messreihen (M). Jeder Punkt zeigt ein über fünf Messwiederholungen gemitteltetes Spektrum des jeweiligen Blattes um jeweiligen Zeitpunkt 1 bis 8. Der Farbcode steht für die Messreihen 1–8 (jung: hell, alt: dunkel).

PCA of the averaged spectra of the measured leaves of peppermint for the eight measurement series. Each point represents the averaged spectrum of five repeated measures of the respective leaf. The color codes the measurement series 1–8 (young: light, old: dark).

bewegen sich aber in Bereichen, die nicht zu Überschneidungen mit den untersuchten Arzneipflanzen führen, sodass die messbaren Unterschiede zwischen den Arten ungeachtet des Wachstumsstadiums von Greiskraut zu finden sind. In der Hauptkomponentenanalyse (Abb. 9) ist im Gegensatz zur Pfefferminze keine klare Gruppie-

rung nach Alter zu erkennen, da die Spektren aller Altersstufen relativ homogen im Raum von PC 1 und PC 2 verteilt sind. Ausschließlich das bereits oben diskutierte, ab Messtag 7 einsetzende Welken der Pflanzen ist in der Häufung von Spektren später Messung im negativen PC 1 und PC 2 Bereich zu beobachten.

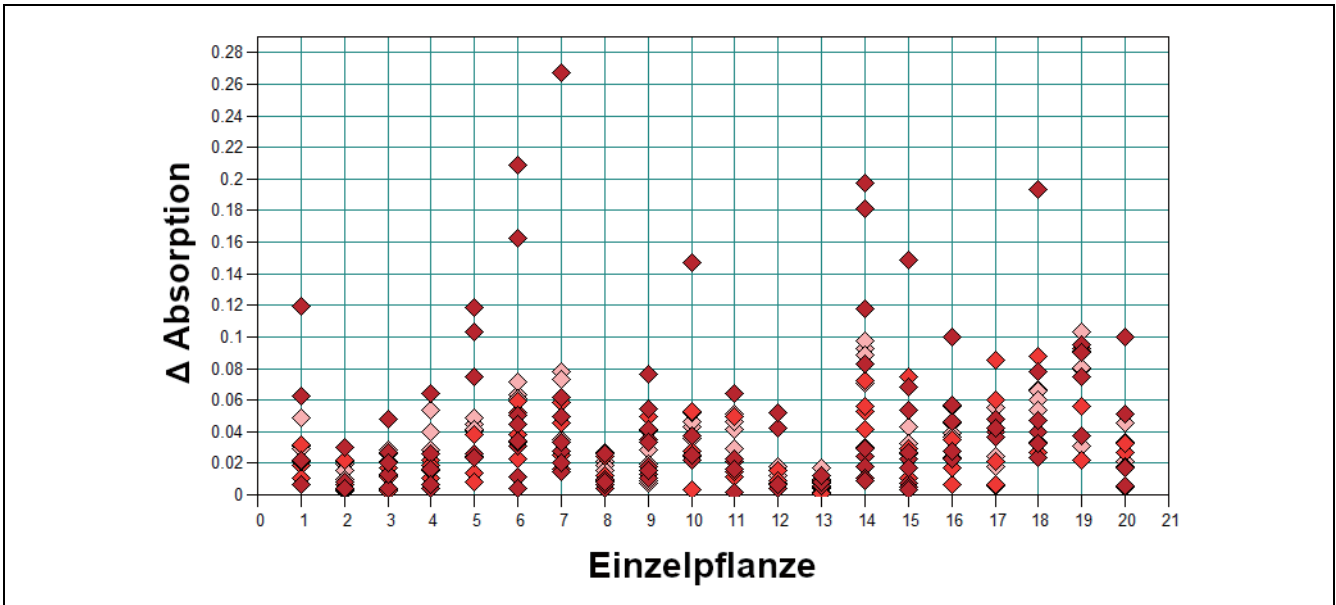


Abb. 8. RMS-Fehler (root mean square) der Spektren um das Mittelwertspektrum des jeweils gemessenen Blattes von Greiskraut über verschiedene Entwicklungsstufen (M). Jeder Punkt steht für ein gemessenes Spektrum desselben Blattes (N = 20, n = 12–18, M1-M4/jung: hellrot, M5-M8/mittel: rot, M9–18/alt: dunkelrot).
Absorption differences (RMS, root mean square) of the individual spectra to the average spectrum (leaf wise) of groundsel during plant development (M). Each point represents a measured spectrum of the same leaf (N = 20, n = 12–18, M1-M4/young: light red, M5-M8/middle: red, M9–18/old: dark red).

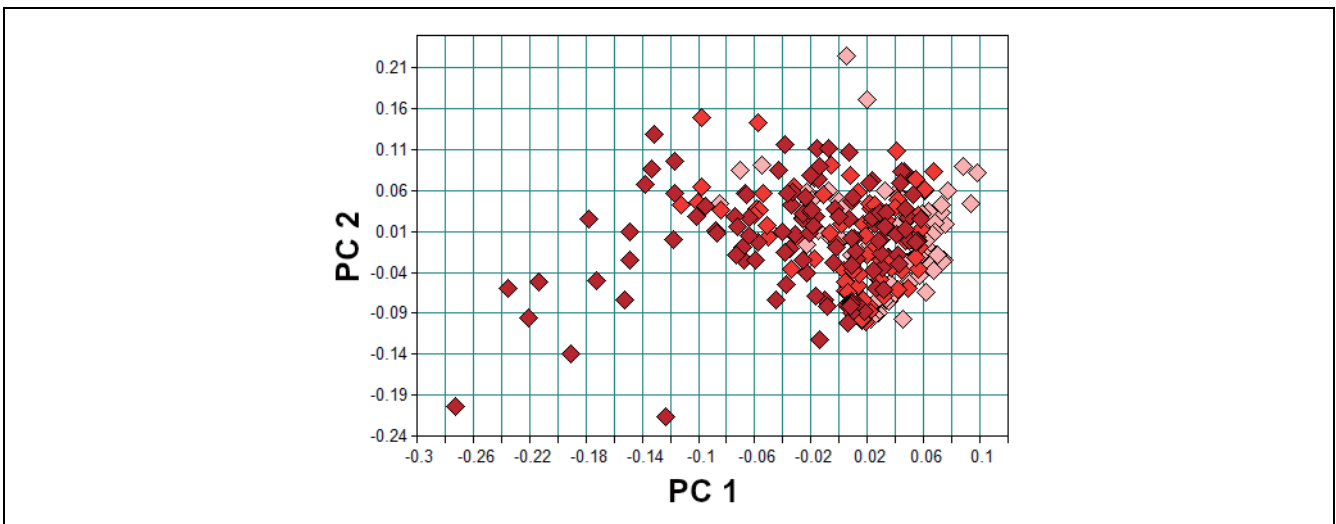


Abb. 9. PCA von Greiskraut zu verschiedenen Entwicklungsstufen (M). Jeder Punkt zeigt ein gemessenes Spektrum desselben Blattes einer Pflanze (N = 20, n = 12–18, M1-M4/jung: hellrot, M5-M8/mittel: rot, M9–18/alt: dunkelrot).
PCA of groundsel of different developmental stages (M). Each point shows a measured spectrum of the same leaf of a plant (N = 20, n = 12–18, M1-M4/young: light red, M5-M8/middle: red, M9–18/old: dark red).

Hyperspektral-NIRS-Klassifikation

Ergänzend zu den Untersuchungen auf Basis der FT-NIR Messungen wurden mittels NIR Hyperspectral Imaging (bildgebende Spektroskopie) Bilder einzelner Blätter der in Karlsruhe in Containern gezogenen Pflanzen aufgenommen und ausgewertet.

Ein exemplarisches Ergebnis ist in Abb. 10 zu sehen. Gezeigt ist eine Falschfarbendarstellung einer Mischprobe auf Basis einer pixelweisen Transformation der Spektren mittels Hauptkomponentenanalyse. Es ist deutlich

zu erkennen, dass sich die PA-Beikräuter farblich von den restlichen Proben in dieser Darstellung abheben (Blau-töne in Abb. 10).

Ausblick

Alle hier vorgestellten Ergebnisse beziehen sich ausschließlich auf die Messung frischer Proben, die direkt nach der Ernte gemessen wurden und zeigen, dass die Klassifizierung mittels NIR-Spektroskopie ohne Berück-

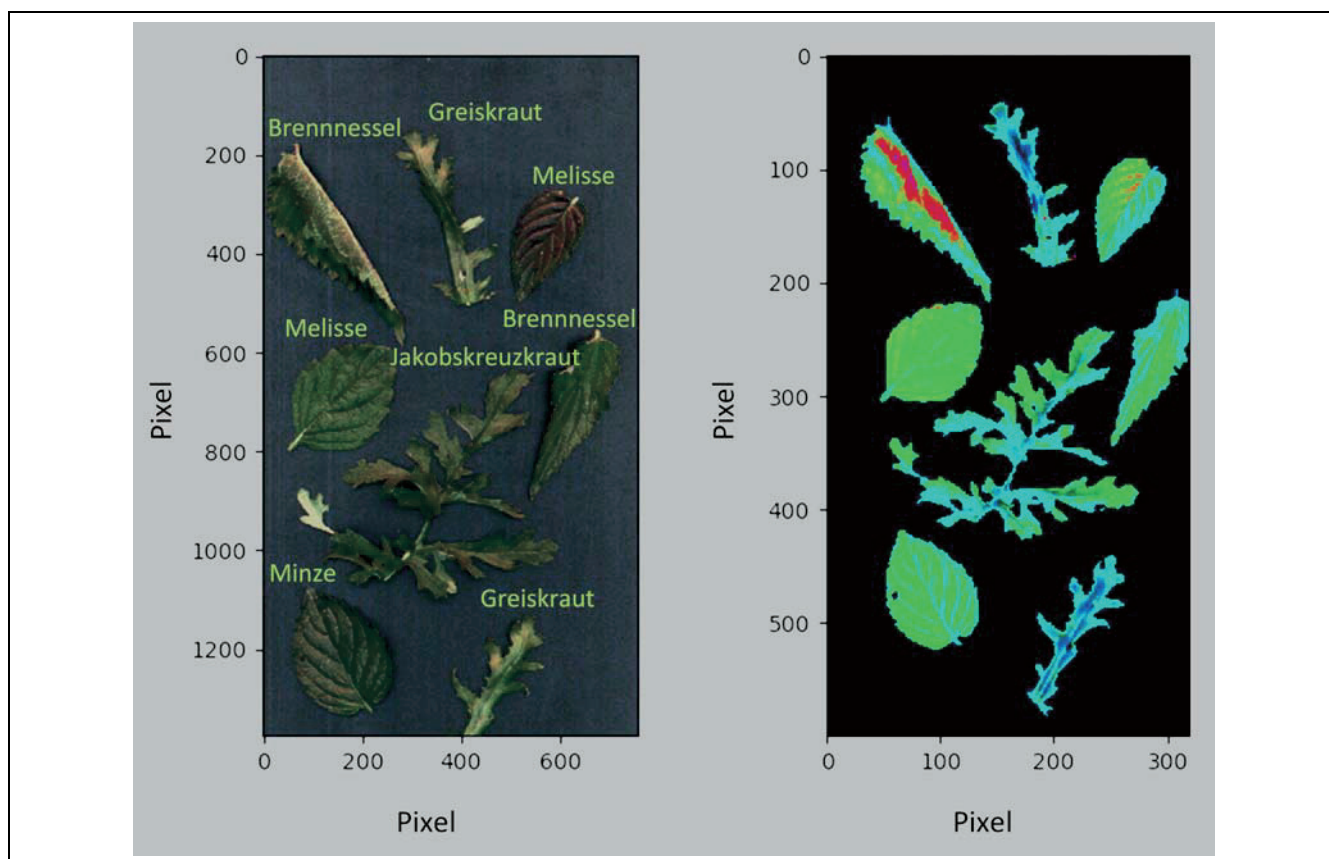


Abb. 10. Farb- und Hyperspektralbild einer Mischprobe. Links: Farbbild der Probe bestehend aus den drei Zielkulturen und zwei PA-Beikräutern. Rechts: Falschfarbendarstellung auf Basis einer pixelweisen Hauptkomponentenanalyse mit Clusterung nach Ziel- (grün) und Beikrautkultur (blaugrün).

Colour and hyperspectral image of a composite sample. Left: Color image of the sample consisting of the three target cultures and two PA weeds. Right: False color image based on a pixelwise main component analysis with clustering according to target culture (green) and weed culture (blue-green).

sichtigung der intensivsten Wasserbanden generell möglich ist. Die gleichen Versuche müssen nun noch mit den entsprechenden Drogen durchgeführt werden um sicher zu stellen, dass dies genauso mit dem getrockneten Pflanzenmaterial möglich ist. Außerdem ist zu beachten, dass sich alle hier gezeigten Ergebnisse nicht ohne weiteres auf andere Arten übertragen lassen sondern für alle neuen Zielkulturen neue Modelle entwickelt werden müssen.

Des Weiteren besteht bei Blatt- und Blütendrogen die besondere Herausforderung, das Erntematerial zuvor in geeigneter Weise aufzubereiten (z.B. zu zerkleinern) bzw. Blätter und Blüten zu vereinzeln, während die Aufreinigung geernteter Körnerdrogen wie z.B. Fenchel- oder Kümmelfrüchte hinsichtlich des Material-Handlings geringere Probleme bereiten sollte.

Zur Risikominderung und Kostenoptimierung werden weitere optische Detektionsmethoden (z.B. Mittelinfrarot-Spektroskopie, VIS-Detektion,...) untersucht. Ebenso sollen die zur Identifikation genutzten spektralen Bereiche weiter verkleinert werden, um die zur Erkennung notwendigen Daten zu reduzieren und den Prozess auf reale Verarbeitungsströme zeitlich anzupassen.

Die nächsten Schritte beinhalten weitere Datenaufnahme von Pflanzenmaterial unterschiedlicher Trock-

nungsgrade und die Entwicklung individueller NIRS-basierter Kalibrationsmodelle zur qualitativen Bestimmung der einzelnen Pflanzenarten.

Zukünftig sollen erzeugte Mischproben mit definierten PA-Krautanteilen, sowie echte Ernteproben mit möglicher PA-Belastung von Arzneipflanzenanbauern und -verarbeitern beschafft und quantitativ analysiert werden. Darüber soll untersucht werden, inwieweit spezifische spektroskopische Signale mit bestimmten PA-Inhaltsstoffen korreliert werden können. Die tatsächliche Belastung mit Pyrrolizidinalkaloiden soll über konventionelle LC-MS-Analytik erfolgen und in Form von Referenzdaten für die spätere NIRS-Analytik und die Entwicklung quantitativer Modelle herangezogen werden. Hinsichtlich der Identifizierung von PA-Pflanzen ist es nicht erforderlich, dass die Pyrrolizidinalkaloide selbst diagnostische Signale geben, solange deren Quantität eindeutig mit anderen relevanten Diskriminanten korrelierbar ist.

Zudem wird geprüft, inwiefern das Schmalblättrige Greiskraut (*Senecio inaequidens*), welches seinen Ursprung in Südafrika hat und sich seit den 1970er Jahren rasant in Europa verbreitet hat, in weite Untersuchungen eingebunden werden kann. Es dringt als Unkraut auf Agrar- und Weideflächen und ist dort ebenfalls eine Gefahr für

die Gesundheit von Mensch und Tier, sowie die Biodiversität phytophager Insekten (BfN, 2013). In der Schweiz steht sie bereits auf der schwarzen Liste invasiver Spezies und das Bundesamt für Bevölkerungsschutz stuft ihr Gefährdungspotential als „groß“ ein (BABS, 2015).

Dieses Projekt bietet die Chance auf einen kostengünstigen Lösungsansatz um den Besatz an gesundheitsschädlichen PA-Kräutern in Arzneidroge anhand der in der Lebensmittelindustrie weit verbreiteten NIRS-Analysetechnik zu reduzieren. Es ist darüber hinaus zu erwarten, dass sich aus dem im Rahmen der Projektarbeit generierten Know-Hows später auch analoge Ansätze für Anwendungen in der Erntetechnik entwickeln lassen.

Danksagung

Diese Verbundprojekt „Detektion und Entfernung von Pyrrolizidinalkaloid-haltigen Unkräutern aus Kulturpflanzen nach der Ernte – PA-NIRSort“ wird gefördert über das Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft und über die Fachagentur für Nachwachsende Rohstoffe e. V. (FNR) (FKZ 220132165) aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages.

Wir bedanken uns bei unseren Industriepartnern für die finanzielle, ideelle und materielle Unterstützung (Anklam Extrakt GmbH, Bad Heilbrunner® Naturheilmittel GmbH & CO KG, Binder + Co. Aktiengesellschaft, Bombastus-Werke AG, Deutscher Teeverband e.V. (TEE) und Wirtschaftsvereinigung Kräuter- und Fruchtee e.V. (WKV), Dr. Willmar Schwabe GmbH & Co. KG, Klosterfrau Berlin GmbH, Repha GmbH Biologische Arzneimittel, PHARMAPLANT Arznei- und Gewürzpflanzen Forschungs- und Saatzucht GmbH, PhytoLab GmbH & Co. KG, SALUS Haus GmbH & Co. KG, Schaper & Brümmer GmbH & Co. KG, Steigerwald Arzneimittel GmbH).


Interessenskonflikte

Die Autoren erklären, dass keine Interessenskonflikte vorliegen.


Literatur

- BABS, 2015: „Nationale Gefährdungsanalyse - Gesundheitsdossier Massenausbreitung invasiver Arten“. Gefährdungsdossiers und Szenarien. Bundesamt für Bevölkerungsschutz (BABS).
- BfArM, 2016: „Verunreinigung pflanzlicher Arzneimittel durch Pyrrolizidinalkaloide: BfArM macht der pharmazeutischen Industrie neue Vorgaben“. Pressemitteilung 4/16. Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte (BfArM).
- BfArM, BfI, 2016: „Code of practice to prevent and reduce pyrrolizidine alkaloid contaminations of medicinal products of plant origin“. Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants.
- BfN, 2013: „Neobiota: Senecio inaequidens“. Bundesamt für Naturschutz (BfN). Arten-Handbuch, <https://neobiota.bfn.de/handbuch/gefaesspflanzen/senecio-inaequidens.html>.
- EU, 2006: *Verordnung (EG) Nr. 401/2006 der Kommission vom 23. Februar 2006 zur Festlegung der Probenahmeverfahren und Analysemethoden für die amtliche Kontrolle des Mykotoxingehalts von Lebensmitteln. OJ L. Bd. 070.*
- FLADE, J., B., H. BESCHOW, M. WENSCH-DORENDORF, A. PLESCHER, W. WÄTJEN, 2019: Occurrence of Nine Pyrrolizidine Alkaloids in *Senecio vulgaris* L. Depending on Developmental Stage and Season. *Plants* **8** (3), 54.
- FREUND, M., M. LAFONTAINE, K.-U. VIETH, C. NEGARA, 2015: Beerensortierung bei Weißwein nach Größe und Farbe und deren Einfluss auf die Weinqualität. In *38th World Congress of Vine and Wine (Part 2)*, 5:06003. EDP Sciences.
- GUDI, G., A. KRÄHMER, H. KRÜGER, L. HENNIG, H. SCHULZ, 2014: Discrimination of Fennel Chemotypes Applying IR and Raman Spectroscopy: Discovery of a New γ -Asarone Chemotype. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **62** (16), 3537-47.
- GUDI, G., A. KRÄHMER, H. KRÜGER, H. SCHULZ, 2015: Attenuated Total Reflectance-Fourier Transform Infrared Spectroscopy on Intact Dried Leaves of Sage (*Salvia officinalis* L.): Accelerated Chemotaxonomic Discrimination and Analysis of Essential Oil Composition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **63** (39), 8743-50.
- NAUMANN, A., L. KURTZE, A. KRÄHMER, H. HAGELS, H. SCHULZ, 2014: Discrimination of Solanaceae Taxa and Quantification of Scopolamine and Hyoscyamine by ATR-FTIR Spectroscopy. *Planta Medica* **80** (15), 1315-20.
- NITZSCHE, J., A. PLESCHER, S. WAHL, 2018: Pyrrolizidinalkaloid-haltige Beikräuter in Arznei- und Gewürzpflanzenkulturen - Verbreitung und Gefahr der Kontamination von Ernteprodukten in Deutschland. Tagungsband 28. Deutsche Arbeitsbesprechung über Fragen der Unkrautbiologie und - bekämpfung: 27. Februar - 1. März 2018, Braunschweig **458**, 408-18.

© Der Autor/Die Autorin 2020.

 Dies ist ein Open-Access-Artikel, der unter den Bedingungen der Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz (CC BY 4.0) zur Verfügung gestellt wird (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.de>).

© The Author(s) 2020.

 This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.en>).

Thomas Pfeiffer, Heidi Heuberger

Die Branche hat die „Herausforderung Pyrrolizidinalkaloide“ in Arznei-, Gewürz- und Aromapflanzen konstruktiv angenommen

The sector has constructively faced the challenge of pyrrolizidine alkaloids
in medicinal and aromatic plants

Zusammenfassung

Nachdem Pyrrolizidinalkaloide (PA) in Tees, Kräutern und Arzneipflanzen als Kontaminanten nachgewiesen worden waren, setzten sich alle Akteure der Branche dafür ein, das Risiko der PA-Kontamination zu verringern. Auf der Basis von Risikoanalysen wurden mögliche Eintragswege der PA-haltigen Unkräuter identifiziert. In verschiedensten Veranstaltungen informierten sich Landwirte und Verarbeiter über Ursachen und Maßnahmen zur Risikominderung. Forschungsprojekte zur Bewertung des PA Potenzials von Unkräutern, zur Verbesserung der Unkrautbekämpfung und zur PA-Eliminierung wurden durchgeführt oder begonnen. Dabei arbeiten Landwirte, Verarbeiter und Forscher eng zusammen. Über Fachgremien wie den Deutschen Fachausschuss für Arznei-, Gewürz- und Aromapflanzen laufen die Informationen zusammen, die wiederum in Aktivitäten der Akteure entlang der Prozesskette münden. Die Anstrengungen aller Branchenmitglieder haben bereits zu rückläufigen PA-Gehalten in den Rohstoffen geführt. Eine hundertprozentige PA-Freiheit wird es nicht geben. Künftige toxikologische Daten werden eine differenziertere Bewertung der Kontamination mit den verschiedenen PA erlauben.

Stichwörter: Kontamination, Pyrrolizidinalkaloide, Risikominderung, Unkrautbekämpfung

Abstract

As soon as pyrrolizidine alkaloids (PA) had been detected in herbal teas, spices and medicinal plants, all players of the sector committed themselves to reduce the risk of PA contamination for their products. Based on risk assessments, likely contamination pathways from PA containing weeds into the herbal products were identified. In numerous events farmers and herbs processing companies informed themselves about PA sources and measures to reduce the risk of contamination. Research projects were run or started to evaluate the PA potential of weeds, to improve weed control and to eliminate PA from herbal material. Farmers, processors and researchers collaborate closely to achieve these goals. Professional bodies like the German Committee on Medicinal and Aromatic Plants are platforms for discussion of recent PA information and for initiation of further activities along the process chain. The efforts of all players of the sector already led to reduced PA concentrations in herbal products. However, a perfect solution for zero contamination will not come true. Upcoming toxicity data will allow to individually evaluate contaminations with different PA substances.

Key words: contaminants, pyrrolizidine alkaloids, risk reduction, weed control

Affiliation

Deutscher Fachausschuss für Arznei-, Gewürz- und Aromapflanzen, Lonnerstadt

Kontaktanschrift

Dr. Heidi Heuberger, Deutscher Fachausschuss für Arznei-, Gewürz- und Aromapflanzen, Vöttinger Str. 38, 85354 Freising, E-Mail: heidi.heuberger@lfl.bayern.de

Zur Veröffentlichung angenommen

06. März 2020

Der Deutsche Fachausschuss für Arznei-, Gewürz- und Aromapflanzen (DFA) stellt sich vor

Die Branche der Arznei-, Gewürz- und Aromapflanzenproduzenten wird auf Bundesebene vom Deutschen Fachausschuss für Arznei-, Gewürz und Aromapflanzen (DFA) vertreten. In diesem Fachgremium sind neben dem Anbau auch Industrie, Handel, Forschungseinrichtungen und Behörden durch Delegierte aus den einzelnen Bundesländern und Experten vertreten.

Vorab einige grundsätzliche Gedanken

Jegliche Form menschlicher Existenz ist mit Chancen aber auch Risiken verbunden. Dies trifft selbstverständlich auch auf die Aufnahme von Lebensmitteln oder die Einnahme von Arzneimitteln zu! Wir als Menschen müssen entscheiden und unterscheiden, welche Risiken gehen wir ein und welche Konsequenzen ergeben sich bei Umgehung des Risikos. Wer die Risiken der Nahrungsmittelaufnahme nicht eingehen will, wird (salopp gesagt) über kurz oder lang verhungern und sich damit den Risiken des Lebens endgültig entziehen.

Das Risiko auf Leib und Leben von Mensch und Tier, welches z.B. von Pyrrolizidinalkaloid (PA)-haltigen Pflanzen ausgeht ist, seit alters her überliefert. Neuzeitliche Analytik kann nun die chemische Zusammensetzung dieser Inhaltsstoffgruppe finden und mittlerweile in fast unvorstellbaren Kleinstmengen nachweisen.

Als moderner Mensch müssen wir jedoch evolutionsgeschichtlich unseren Mitgeschöpfen zugestehen, eigene Schutzmechanismen entwickelt zu haben. PA dienen vielen Pflanzen zum Schutz vor Fraßfeinden wozu natürlich in der jüngeren Evolutionsgeschichte auch der Mensch als ehemaliger Jäger und Sammler gehört.

Wir Menschen sind deshalb mit einer Reihe von Sinnesorganen ausgestattet, Geschmack, Geruch, Sehvermögen usw. Unsere Sinnesorgane befähigen uns zu einer intuitiven Risikobewertung bei der Nahrungsmittelaufnahme. Ebenso religiöse oder gesellschaftliche Prägungen unterstützen uns seit Urzeiten bei der fortwährenden Risikoabschätzung. Gesetzliche Rahmenbedingungen durch Festsetzung von Höchst- und Grenzwerten sowie deren Überwachung durch moderne Analytik sind hinzugekommen. Diese sind sehr hilfreiche Unterstützer, insbesondere bei Risiken, die sich unseren menschlichen Sinnen entziehen. Durch die moderne Analytik und Experimente im Zellmodell sind wir in eine Lage versetzt worden, potenzielle Risikofaktoren zu finden, welche uns in der bisherigen Menschheitsgeschichte nicht bewusst waren. Daraus ergibt sich die Verantwortung und Fürsorgepflicht des Lebensmittelproduzenten und des Gesetzgebers.

Höchst- und Grenzwerte für PA

Für Arzneimittel, die aus Pflanzen hergestellt werden, welche PA als natürlichen Inhaltsstoff bilden, sind in

Deutschland bereits seit 1992 maximale Aufnahmemengen rechtsgültig (BUNDESGESUNDHEITSAMT, 1992)!

Durch Verunreinigung z.B. mit Beikräutern können jedoch praktisch alle landwirtschaftlichen und gärtnerischen Erzeugnisse sowie Wildsammelprodukte mit PA belastet sein. Daraus ergeben sich neue regulatorische Herausforderungen zum Verbraucher- und Patientenschutz.

Anstrengungen zur Risikominimierung der PA-Belastung

Der Deutsche Fachausschuss Arznei-, Gewürz- und Aromapflanzen sowie die im DFA vertretenen regionalen Netzwerke und Berater unterstützen hier seit der Gründung im Jahr 1990 die Ziele eines bestmöglichen Verbraucher- und Patientenschutzes. Seit der Veröffentlichung des Bundesinstitutes für Risikobewertung (BfR) im Jahr 2013 zum Vorkommen von PA in Lebensmitteltees diskutieren die Mitglieder des DFA regelmäßig neue Entwicklungen bei der Risikobeurteilung, der Analytik, den rechtlichen Vorgaben, sowie der Erforschung von Ursachen und Risikominimierungsstrategien. Daraus resultierten verschiedenste Aktivitäten zur Aufklärung und Beratung von Landwirten, Verarbeitern und Herstellern bzw. deren Verbände. Zudem wurden von den Mitgliedern des DFA entsprechende Forschungsprojekte angestoßen, fachlich begleitet oder selbst durchgeführt.

Bereits im Jahr 2011 stellte ein Vertreter des Dienstleistungszentrum Ländlicher Raum Rheinpfalz (DLR) beispielsweise den bayerischen Anbauern von Arznei- und Gewürzpflanzen die Ergebnisse ihrer Forschung über Ursachen und mögliche Bekämpfungsstrategien von gemeinem Kreuzkraut (*Senecio vulgaris*) vor (PFEIFFER, 2011). Unzählige weitere öffentliche Vorträge von Beratern und Forschern zum Thema PA und PA-Risikoreduzierung folgten seither u. a. in den Kräuteranbau-Netzwerken der Bundesländer, bei den Bernburger Winterseminaren, bei den DFA-Tagungen zur Arznei- und Gewürzpflanzenforschung in Wien und Bonn.

Der DFA hat am Code of Practice zur Vermeidung und Verringerung von Kontaminationen pflanzlicher Arzneimittel mit Pyrrolizidinalkaloiden des Bundesverbands der Arzneimittel-Hersteller (BAH) und des Bundesverbands der Pharmazeutischen Industrie (BPI) mitgewirkt (DITTRICH et al., 2016, BAH und BPI, 2017) und dabei vor allem die möglichen Minimierungsmaßnahmen der Landwirte und Erstverarbeiter in der Produktion bis zur getrockneten Rohware formuliert. Diese Minimierungsmaßnahmen fanden Eingang in die Codes of Practice der Wirtschaftsvereinigung Kräuter- und Fruchtee, sowie des Arbeitskreises Nahrungsergänzungsmittel des Lebensmittelverbands Deutschland (BLL AK NEM 2019, WKf/TEEverband, 2018).

Der DFA wirkt zudem am „Runden Tisch Pyrrolizidinalkaloide beim BLL“ des Lebensmittelverbands Deutschland (ehem. Bund für Lebensmittelrecht und Lebensmittelkunde e. V., BLL) mit. Er bringt so die Expertise aus dem

Anbau der Arznei- und Gewürzpflanzen ein und trägt neue Erkenntnisse bzw. Informationen zu aktuellen Entwicklungen in die Branche zurück. Auf Europäischer Ebene bringen Experten der Branche und Delegierte des DFA die Erfahrungen aus Deutschland ein, das diese Thematik zuerst aufgegriffen hat. Dies geschieht z.B. im Rahmen der Delegiertenversammlungen des Europäischen Kräuterproduzentenverbands EUROPAM.

Im Folgenden sind einige der Projekte genannt, die zur Erforschung der PA-Problematik und Entwicklung von Lösungen seit 2013 von Mitgliedern des DFA angestoßen, fachlich begleitet oder selbst durchgeführt wurden

- Erfassung der standortabhängigen und kulturpflanzen-spezifischen Beikrautflora in Arzneipflanzenbeständen unter besonderer Berücksichtigung Pyrrolizinalkaloid-haltiger Unkräuter“ (sog. „Unkraut-Datenbank“)
- Vermeidung des Eintrags von PA-bildenden und anderen giftigen Unkrautarten in Arznei- und Gewürzpflanzenbeständen über das Ausgangssaatgut
- Einfluss des Entwicklungsstadiums auf den PA-Gehalt von Gewöhnlichem Greiskraut (*Senecio vulgaris*)
- Einfluss des Pflanzenorgans und der Jahreszeit auf den PA-Gehalt von Gewöhnlichem Greiskraut (*Senecio vulgaris*)
- Status Quo-Analyse der Unkrautregulierung im ökologischen Arznei- und Gewürzpflanzenanbau in Bayern
- Optimierung der Unkrautregulierung im Anbau von Arznei- und Gewürzpflanzen, mit besonderem Augenmerk auf indirekte und mechanische Verfahren sowie auf die Bestandsetablierungsphase von Kamille und Melisse
- Beikrautregulierung in Ökobetrieben mit Gemüsekulturen unter besonderer Betrachtung von moderner RTK (real time kinematic)-Steuerungs-, Ultraschall- und Kameratechnik; Bewertung hinsichtlich Effektivität, Verträglichkeit, des Arbeitsbedarfs und der Kosten
- Spezialrecherche zu Pflanzenschutzmittelwirkstoffen für PA-haltige Unkräuter bei Arznei- und Gewürzpflanzen im Rahmen des „Verbundvorhaben Lückenindikationen für Landwirtschaft und Gartenbau“ auf Anfrage des DFA
- Versuche mit Herbiziden zur Bekämpfung PA-haltiger Unkräuter im Rahmen der Herbizidzulassung bei Kulturen mit geringem Anbauumfang. Daueraufgabe der Pflanzenschutzdienste der Länder zur Beantragung von erweiterten Zulassungen nach Artikel 51 VO (EU) Nr. 1107/2009 (Lückenindikationszulassung)

Ausblick

Erfreulicherweise haben die gemeinsamen Anstrengungen von Forschung, Anbauern, Wildsammlern, Handel, Beratern, Herstellern usw. innerhalb der letzten Jahre zu einer deutlichen Reduktion des PA-Besatzes in Kräuter-

und Arzneitees geführt. Interne Datenauswertungen der Arzneipflanzen-verarbeitenden Industrie bestätigen dies (STEINHOFF, 2019). Ebenso bestätigen z.B. aktuelle Auswertungen der amtlichen deutschen Lebensmittelüberwachung diese erfreuliche Entwicklung (SACHSE et al., 2020 siehe Beitrag in diesem Heft)!

Trotzdem bleibt festzuhalten: Bei landwirtschaftlicher oder gärtnerischer Erzeugung sowie bei Wildsammlung wird immer die Gefahr der Verunreinigung mit Umweltkontaminanten bleiben. Ein Nicht-Vorhandensein von z.B. PA in Kräuter- und Arzneimitteltees oder Rohwaren für „pflanzliche Arznei- und Nahrungsergänzungsmittel“ wird es nie geben!

In Anbetracht der anstehenden Höchstmengenfestsetzung für PA in Lebensmitteln in der Verordnung (EG) Nr. 1881/2006 (Kontaminanten-Verordnung) und der noch offenen Verlängerung des Grenzwertes von 1,0 µg pro Tag für den Arzneimittelbereich empfehlen wir allen Prozessbeteiligten, diesen neuen Sachverhalt kritisch mit der eigenen Produkthaftpflichtversicherung zu prüfen. Auch bei bestmöglicher Einhaltung von „Guter Landwirtschaftlicher und Wildsammel-Praxis“ sowie hoher Dichte an analytischen Untersuchungen werden auch zukünftig Überschreitungen der Höchstmengen bzw. Grenzwerte festgestellt werden. Blütenpollen von PA-Pflanzen herübergeweht von Nichtkulturflächen können beispielsweise bereits zu einer Höchstmengenüberschreitung einer ganzen Charge führen. Auch unsachgemäßer Probenzug oder Stichprobenprüfung von Einzelpackungen aus dem Lebensmitteleinzelhandel können wegen Spotkontamination zukünftig schnell zu einer analytisch festgestellten PA-Höchstmengenüberschreitung führen, welche in der ursprünglichen Gesamtcharge nicht feststellbar war. Zudem bestehen umfangreiche (Produkt-) Haftungspflichten auch bei unverschuldeter Nichteinhaltung gesetzlicher Höchstmengen. Hier ist es deshalb wichtig für die noch ausstehende Rechtsfindung (Stichworte Verhältnismäßigkeit, Selbstkontrollpflichten usw.) zumindest ausreichende Versicherungsdeckung zu besitzen.

Wir erwarten, dass mit fortschreitender wissenschaftlicher Erkenntnis zur Toxikologie der einzelnen PA-Derivate auch eine Neubewertung des Risikos sowie differenziertere Begrenzungen der Kontaminationen von Arznei- und Lebensmitteln vorgenommen werden.

Interessenskonflikte


Die Autoren erklären, dass keine Interessenskonflikte vorliegen.

Literatur


BAH, BPI, 2017: Code of practice to prevent and reduce pyrrolizidine alkaloid contaminations of medicinal products of plant origin, <http://www.journals.elsevier.com/journal-of-applied-research-on-medicinal-and-aromatic-plants/news>.

- BfR (German Federal Institute for Risk Assessment), 2013: Pyrrolizidine alkaloids in herb teas and teas. Statement 018/2013 of the BfR of 05 July 2013. www.bfr.bund.de.
- BUNDESGESUNDHEITSAMT, 1992: Stufenplan über die Zulassung und Registrierung von Arzneimitteln, die Pyrrolizidin-Alkaloide mit einem 1,2-ungesättigten Necin-Grundgerüst enthalten. Bundesanzeiger Nr. 111 vom 17.06.1992.
- DITTRICH, H., K. HÖSEL, H. SIEVERS, B. KLIER, F. WAIMER, H. HEUBERGER, A. PLESCHÉ, N. ARMBRÜSTER, B. STEINHOFF, 2016: Code of Practice zur Vermeidung und Verringerung von Kontaminationen pflanzlicher Arzneimittel mit Pyrrolizidinalkaloiden. *Pharm. Ind.* **78** (6), 836-845.
- PFEIFFER, T., 2011: Gemeinsame Mitgliederversammlung 2011: Verein zur Förderung des Heil- und Gewürzkräuteranbaus in Bayern e. V. und Erzeugerring Heil- und Gewürzpflanzen Bayern e. V. Z. *Arznei- Gewürzpfla* **16** (3), 102-104.
- SACHSE, B., A. THESE, M. GEHLING, S. TAUBE, C. SOMMERFELD, O. LINDTNER, B. SCHÄFER, 2020: Risiken von Pyrrolizidinalkaloiden in Tee und Kräutertee. *Journal für Kulturpflanzen* **72** (4), Seitenzahlen bei Vorliegen der Gesamtdruckfahne, DOI: 10.5073/JfK.2020.04.02.
- STEINHOFF, B., 2019: Pyrrolizidine alkaloid contamination in herbal medicinal products: Limits and occurrence. *Food Chem Tox* **130**, 262-266, DOI: 10.1016/j.fct.2019.05.026.
- WKF/TEEverband, 2018: Code of Practice zur Vermeidung und Verringerung von Kontaminationen mit Pyrrolizidinalkaloiden in Rohstoffen für Kräutertees und Tee. <https://www.wkf.de/de/kraeuter-fruechte/fachtexte/recht/>.

© Der Autor/Die Autorin 2020.

 Dies ist ein Open-Access-Artikel, der unter den Bedingungen der Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz (CC BY 4.0) zur Verfügung gestellt wird (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.de>).

© The Author(s) 2020.

 This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.en>).

Jens Flade^{1, 2}, Heidrun Beschow¹, Andreas Plescher², Wim Wätjen¹

Pyrrrolizidinalkaloide in *Senecio vulgaris* L. in Abhängigkeit vom Entwicklungsstadium unter Betrachtung verschiedener Jahreszeiten

Pyrrrolizidine alkaloids in *Senecio vulgaris* L. depending on development stage and season

Zusammenfassung

Das Gewöhnliche Greiskraut (*Senecio vulgaris* L.) wird aufgrund seiner toxischen Inhaltsstoffe (Pyrrrolizidinalkaloide, PAs) und seines enormen Verbreitungspotentials in landwirtschaftlichen Sonderkulturen als problematisch eingestuft (ROBINSON et al., 2003; BFR, 2007; WIEDENFELD, 2011; WIEDENFELD und EDGAR, 2011). Die vorliegende Untersuchung hatte daher zum Ziel in Parzellenfreilandversuchen die Wachstumsparameter von *Senecio vulgaris* und den Gehalt von verschiedenen PAs hinsichtlich ontogenetischer Unterschiede zu verschiedenen Jahreszeiten zu untersuchen.

Wie bereits für andere *Senecio*-Arten gezeigt, wird auch in *Senecio vulgaris* der PA-Gehalt (PA-Gesamtsumme, tertiäre PAs und PA-*N*-oxide) je nach Jahreszeit durch das Entwicklungsstadium beeinflusst. Allgemein zeigt sich eine Tendenz, dass die PA-Konzentration bis zur Vollblüte ansteigt und nachfolgend zur Frucht- und Samenreife wieder abnimmt. Von den *N*-oxiden wurden jeweils höhere Gehalte als von den entsprechenden tertiären PAs gefunden. Die Einzelverbindungen werden in ihrer Konzentration unterschiedlich beeinflusst; während einige PAs zu jeder Jahreszeit ontogenetisch verändert wurden (Retrorsin-*N*-oxid, Senecionin), konnte dieses für Senecivernin-*N*-oxid nicht nachgewiesen werden.

Stichwörter: Pyrrrolizidinalkaloide, *Senecio vulgaris* L., Ontogenese, Jahreszeit, pflanzliche Naturstofftoxine

Abstract

The common groundsel (*Senecio vulgaris* L.) is a harmful weed because of its toxic compounds (pyrrrolizidine alkaloids, PAs) and its enormous distribution potential in agricultural and horticultural crops (ROBINSON et al., 2003; BFR, 2007; WIEDENFELD, 2011; WIEDENFELD und EDGAR, 2011). During different seasons and in plot-field experiments we have examined the growth parameters and the amount of different PAs of *Senecio vulgaris* L. related to ontogenetic differences.

As already shown for other *Senecio* species, the PA content in *Senecio vulgaris* (PAs total, tertiary PAs and PA-*N*-oxides) is influenced by the developmental stage, depending on the season. In general, there is a tendency for the PA concentration to increase until full flowering and subsequently to decrease again for fruit and seed maturity. In each developmental stage the contents of the *N*-oxides were higher than the corresponding tertiary PAs. The individual compounds are influenced differently in their concentration: while some PAs are always subject to a significant influence by ontogenesis (retrorsine-*N*-oxide, senecionine), influences for senecivernine-*N*-oxide could only be detected in one season.

Key words: pyrrrolizidine alkaloids, common groundsel, ontogeny, seasons, toxic plant compounds

Affiliationen

Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Institut für Agrar- und Ernährungswissenschaften, Halle/Saale¹
PHARMAPLANT Arznei- und Gewürzpflanzen Forschungs- und Saatzucht GmbH, Artern (Jens Flade zugehörig bis 30.09.2017)²

Kontaktanschrift

Prof. Dr. rer. nat. Wim Wätjen, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Institut für Agrar- und Ernährungswissenschaften, Weinbergweg 22, 06120 Halle/Saale, E-Mail: wim.waetjen@landw.uni-halle.de, Tel.: +49 345 5522380

Zur Veröffentlichung angenommen

11. März 2020

Einleitung

Aus experimentellen Arbeiten ist bekannt, dass die qualitativen und quantitativen Gehalte von Pyrrolizidinalkaloiden (PAs) in *Senecio*-Arten durch verschiedene Parameter determiniert werden (JOHNSON et al., 1985; HARTMANN und ZIMMER, 1986; SCHAFFNER et al., 2003; BERENDONK et al., 2010; KARAM et al., 2011; CARVALHO et al., 2014; CHIZZOLA et al., 2015; NURINGTYAS et al., 2015). Hinsichtlich der starken Verbreitung von *Senecio vulgaris* L. in Kulturen pflanzlicher Erzeugnisse (MITICH, 1995; ROBINSON et al., 2003; WILEN, 2006; WIEDENFELD, 2011; WIEDENFELD und EDGAR, 2011), können quantitative und qualitative Änderungen der PAs ein großes Risiko für den Verbraucher darstellen, da die damit einhergehenden Kontaminationsszenarien verändert werden (YABER GRASS und LEICACH, 2012; CHIZZOLA et al., 2015). Auch für eine Bestimmung und Bewertung der toxischen Wirkungen und Dosis von PAs in Fütterungsexperimenten mit Tieren ist eine große Variabilität der Alkaloide im pflanzlichen Ausgangsmaterial unzulänglich (WIEDENFELD und EDGAR, 2011).

Ziel der Untersuchung war daher, in Parzellenfreilandversuchen die Wachstumsparameter von *Senecio vulgaris* in der oberirdischen Biomasse bzw. im Kraut zu untersuchen. Vor allem aber stand zum Ziel, die PA-Parameter (Konzentration bezogen auf die Trockenmasse, Menge pro Pflanze) auf ontogenetische Unterschiede zu verschiedenen Jahreszeiten zu untersuchen, um damit einen Beitrag für die Risikobewertung von PAs als Prozesskontaminanten in Arznei- und Lebensmitteln zu leisten. Eine ausführliche Darstellung der Ergebnisse und deren Schlussfolgerungen wurden von FLADE et al. (2019) bereits veröffentlicht.

Material und Methoden

Die praktischen Experimente mittels Parzellenfreilandversuchen wurden im Jahr 2016 (30.03.2016 bis 03.12.2016) im nordthüringischen Artern bei der PHARMAPLANT Arznei- und Gewürzpflanzen Forschungs- und Saatzucht GmbH (Am Westbahnhof 4, 06556 Artern) durchgeführt. Für die Versuche wurden pflanzfertige Jungpflanzen von *Senecio vulgaris*, die in einem Gewächshaus mit Wechseltemperatur (Temperatur je nach Jahres- und Tages-

zeit zwischen 13–32°C) angezogen wurden, verwendet (Abb. 1a).

Es wurden vier Teilversuche zu unterschiedlichen Jahreszeiten durch manuelle Pflanzung angelegt: Frühling (F-01), Frühsommer (FS-02), Hochsommer (HS-03) und Herbst (H-04). Hinsichtlich der Ontogenese wurden für die Untersuchung fünf Entwicklungsstadien für die Probenahme von *Senecio vulgaris* charakterisiert (S-1 bis S-5). Die Charakterisierung der ersten beiden Entwicklungsstadien erfolgte anhand der Anzahl von Pflanzenorganen (S-1: Blätter, S-2: Sprosstriebe). Die weiteren Stadien repräsentierten das Erscheinen der ersten geschlossenen Einzelblüten bis zum Blühbeginn (S-3, bis BBCH 61), Vollblüte (S-4, BBCH 65) und die Fruchtentwicklung/Samenreife (S-5); diese wurden nach visueller Einschätzung der Parzellen bestimmt.

Von jedem Entwicklungsstadium wurden je Teilversuch fünf Wiederholungen (Parzellen von 5,54 m²; Abb. 1b) angelegt und beprobt. Die Anordnung der Wiederholungen erfolgte je Teilversuch im Lateinischen Quadrat. Die Probenahmen erfolgten jeweils ab 13.00 Uhr an den entsprechenden Terminen. Die Trocknung der parzellenweise geernteten Proben erfolgte bei 60°C in einem Trockenschrank. Vor dem Versand der Proben wurde das getrocknete Pflanzenmaterial mit einer Schneidmühle auf 4 mm gemahlen (Abb. 2).

Die anschließenden chemisch-physikalischen Untersuchungen (Trockenmassebestimmung, Clean-Up und PA-Analytik) der erstellten Proben von *Senecio vulgaris* erfolgten bei Institut Kirchhoff Berlin GmbH (Oudenarder Straße 16/Carrée Seestraße, 13347 Berlin-Mitte). Die Proben des Pflanzenmaterials wurden bei Institut Kirchhoff nochmals mit einer Messermühle homogenisiert und unter Zugabe von Trockeneis auf 0,25 mm Korngröße mit einer Ultra-Zentrifugalmühle zerkleinert. Die Bestimmung der Trockenmasse bei 103°C erfolgte von Teilmengen der Proben. Die Analytik der PAs im Pflanzenmaterial erfolgte entsprechend der vom BfR publizierten und validierten Methode „BfR-PA-Tee-2.0/2014“, welche ausführlich die Bestimmung von insgesamt 28 tertiären PAs und PAN-Oxiden (PANOs) mittels SPE-LC-MS/MS beschreibt (BfR, 2014).

In der „BfR-PA-Tee-2.0/2014“ sind 13 PAs des Senecioin-Strukturtyps als Standardsubstanzen aufgeführt, von welchen neun Substanzen in den Proben von *Senecio vulgaris* detektiert wurden: Retrorsin (Re), Retrorsin-

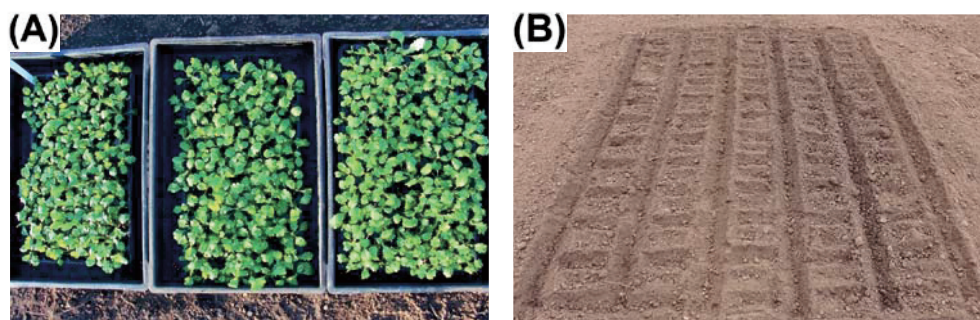


Abb. 1. Ausspflanzung im Freiland A: Pflanzfertige Jungpflanzen von *Senecio vulgaris* in 104er-Jungpflanzenpaletten (Foto: 29.03.2016, Frühling-01). B: Vorgezogene Parzelle vor Pflanzung im Raster 0,33 × 0,2 m (Foto: 29.03.2016, Frühling-01).

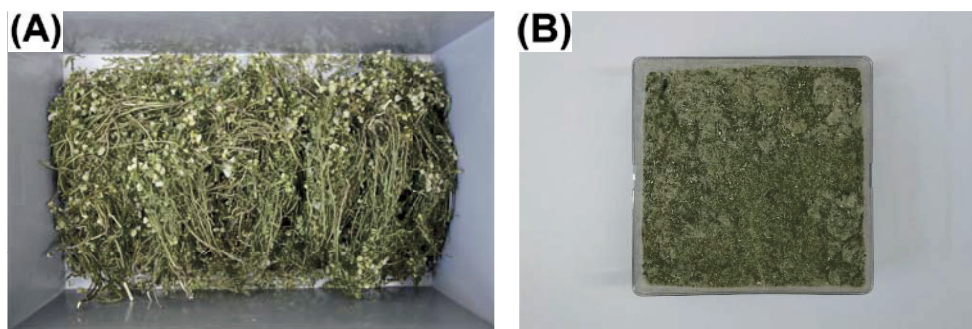


Abb. 2. Probe von *Senecio vulgaris* A: nach Trocknung und B: nach Zerkleinerung auf 4 mm bei PHARMAPLANT (Probe aus Prüfglied S-04, Frühsommer-02).

N-oxid (ReNO), Seneciphyllin (Sp), Seneciphyllin-*N*-oxid (SpNO), Senecivernin (Sv), Senecivernin-*N*-oxid (SvNO), Senecionin (Sc), Senecionin-*N*-oxid (ScNO), Senkirkin (Sk).

Ergebnisse

Die PA-Konzentration der Gesamtsumme der neun PAs unterliegt in drei Jahreszeiten (Frühling, Frühsommer und Herbst) einem signifikanten Einfluss des Entwicklungsstadiums bei Probenahme. Dabei zeigt *Senecio vulgaris* ganzjährig eine PA-Abundanz, in der Gesamtsumme der Einzelverbindungen, von mindestens $1654,3 \pm 394,1 \mu\text{g/g}$ (S-5, Herbst-04) und kann im Jahresverlauf eine maximale Konzentration der PA-Summe von $4910,2 \pm 1349 \mu\text{g/g}$ (S-2, Hochsommer-03) annehmen. Allgemein äußerte sich eine Tendenz der mittleren Abnahme der PA-Konzentration zur Frucht- und Samenreife (S-5).

Die PA-Menge pro Pflanze wird in allen Jahreszeiten bis zur Vollblüte (S-4) maßgebend durch die Wachstumsfunktion der Pflanzenmasse beeinflusst, d.h., dass bis zu diesem Stadium eine stetige Akkumulation von PAs in *Senecio vulgaris* durch oberirdischen Biomassezuwachs erklärt werden kann. Im Frühling ist dies auch noch nach der Vollblüte festzustellen, so erhöht sich mit einem Ansteigen der Frisch- und Trockenmasse die PA-Menge pro Pflanze weiter bis auf $54,16 \pm 4.38 \text{ mg/Pflanze}$; der maximalen gemessenen PA-Menge in der Untersuchung. Weiterhin konnte wahrgenommen werden, dass sich die PA-Mengen in der Vollblüte (S-4) und Frucht- und Samenreife (S-5) deutlich in allen Jahreszeiten unter-

scheiden. Besonders hervorzuheben sind hierbei die hohen PA-Mengen im Frühling und Frühsommer.

Die Beeinflussung der Konzentration der Einzelverbindungen unterliegt einer Dynamik. Während einige PAs stets einem signifikanten Einfluss durch die Ontogenese zeigen (Retrorsin-*N*-oxid, Senecionin), konnten für Senecivernin-*N*-oxid nur im Hochsommer ontogenetische Einflüsse erkannt werden (Tab. 1).

Als PA mit der größten Abundanz in *Senecio vulgaris* konnte Senecionin-*N*-oxid mit einem prozentualen Anteil an der Gesamtsumme der neun PAs von 24,7-60,3% identifiziert werden. Weiterhin werden Seneciphyllin-*N*-oxid mit 11,3-44,5%, Senecionin mit 3,6-17,7%, Seneciphyllin mit 1,4-11,8% und Retrorsin-*N*-oxid mit 0,6-30,0% als weitere Leitalkaloide herausgestellt.

Die biometrisch erfassten Wachstumsparameter (Pflanzenhöhe, Frisch- und Trockenmasse) zeigen, dass *Senecio vulgaris* vor allem im Frühling und Frühsommer sehr wuchsstarke Pflanzen ausbilden kann.

Diskussion

Den zugrundeliegenden Arbeitshypothesen folgend, konnte festgestellt werden, dass die PA-Konzentration bezogen auf die Trockenmasse und die PA-Menge pro Pflanze, für die Summe der neun detektierten PAs, in *Senecio vulgaris* von der Ontogenese bzw. dem Entwicklungsstadium bei Probenahme abhängig ist. Interessant ist zudem, dass beide Parameter, aber v.a. die PA-Menge pro Pflanze, zu einem bestimmten Maße, durch einen jahreszeitlichen Einfluss geprägt werden. Dieser Einfluss

Tab. 1. Ontogenetische Einflüsse auf die Varianz der Konzentration von den PA-Analyten in *Senecio vulgaris* zu verschiedenen Jahreszeiten (F-01 bis H-04), ANOVA, $\alpha = 0,05$. +++ hoch signifikant ($p < 0,001$), ++ sehr signifikant ($p < 0,01$), + signifikant ($p < 0,05$), n.s. nicht signifikant ($p \geq 0,05$).

	Re	ReNO	Sp	SpNO	Sv	SvNO	Sc	ScNO	Sk
F-01	+++	+++	+++	+++	+	n.s.	+++	+++	n.s.
FS-02	+++	+++	+++	+++	+++	n.s.	+++	++	+++
HS-03	+++	+++	+++	++	+++	+	+++	n.s.	+++
H-04	n.s.	+++	n.s.	+	n.s.	n.s.	+++	+++	++

wurde jedoch aufgrund von kausal nicht quantifizierbaren Einflussfaktoren wie Temperatur und Niederschlag nicht statistisch verrechnet. Die Zunahme der PA-Menge pro Pflanze, mit fortschreitender Entwicklung der Versuchspflanzen, kann in *Senecio vulgaris* durch den Biomassezuwachs der Pflanzen erklärt werden. Analog zum Wachstum der oberirdischen Pflanzenteile kann angenommen werden, dass auch die PA-Syntheseorgane (Wurzeln) in ihrem Wachstum zunehmen und zu einem kontinuierlichen Anstieg der PA-Menge pro Pflanze beitragen. Mit zunehmendem Wachstum wird die PA-Konzentration nur wenig ausgeglichen, da sie physiologisch als nicht kostenintensiv gilt (VRIELING und VAN WIJK, 1994; HOL, 2011). Ein Ausgleich zwischen Pflanzenwachstum und PA-Konzentration wird nur unter Bedingungen erwartet, bei welchen beide Parameter von derselben Ressource, wie z.B. Licht, abhängig sind bzw. limitiert werden (VRIELING und VAN WIJK, 1994).

Aus den vorliegenden Untersuchungen wird tendenziell deutlich, dass die PA-Konzentration in der Trockenmasse am Ende des Lebenszyklus von *Senecio vulgaris* zur Frucht- und Samenreife (S-5) abnimmt. HARTMANN und ZIMMER konnten bereits 1986 diesen Effekt in der PA-Konzentration bezogen auf die Frischmasse feststellen.

Im Herbst wurde beobachtet, dass vergleichsweise viele PAs in ihrer Konzentration ontogenetisch nicht beeinflusst werden. Dies kann in der Aktivität der spezifischen Enzyme für die jeweiligen Modifikationen begründet sein, welche HARTMANN und DIERICH (1998) hervorgehoben haben. Es ist vorstellbar, dass sich unterschiedliche Temperaturverhältnisse im Herbstversuch (sehr warm bis S-2; Temperaturen im Minusbereich zu S-5) darin widerspiegeln.

Einhergehend mit a) anzunehmenden unterschiedlichen Erträgen der Sonderkulturen (regional, saisonal, interannuell); b) den Unterschieden in der Abundanz von PA-bildenden Beikräutern in verschiedenen Beständen von Arznei- und Gewürzpflanzen (siehe u.a.: WAHL und PLESCHER, 2017), können die Kontaminationsszenarien auch durch c) die ontogenetischen Unterschiede und jahreszeitlichen Einflüsse in der PA-Menge des Beikrautes beeinflusst werden. Diese Aspekte sollten im Sinne des Verbraucherschutzes für regulatorische Betrachtungen und Maßnahmen berücksichtigt werden, da sich die PA-Konzentration in und die PA-Menge pro Pflanze von *Senecio vulgaris* je nach Entwicklungsstadium und Jahreszeit deutlich unterscheiden können. Zudem stellen die phytochemischen Variationen der Einzelverbindungen während der Ontogenese weitere Herausforderungen dar, weil bekannt ist, dass sich die unterschiedlichen PAs oder PA-Typen in ihrer Toxizität unterscheiden können (Li et al., 2013).

Interessenskonflikte

Die Autoren erklären, dass keine Interessenskonflikte vorliegen.

Literatur

- BERENDONK, C., D. CERFF, K. HÜNTING, H. WIEDENFELD, J. BECERRA, M. KUSCHAK, 2010: Pyrrolizidine alkaloid level in *Senecio jacobaea* and *Senecio erraticus* – the effect of plant organ and forage conservation. Grassland science in Europe 15. Grassland in a changing world. Proceedings of the 23th general meeting of the European Grassland Federation, Kiel, Germany, August 29th – September 2nd 2010. Duderstadt: Mecke Druck und Verlag, S. 669–671.
- BfR, 2007: BfR Salatmischung mit Pyrrolizidinalkaloid-haltigem Greiskraut verunreinigt. Stellungnahme Nr. 028/2007 des BfR vom 10. Januar 2007.
- BfR, 2014: Bestimmung von Pyrrolizidinalkaloiden (PA) in Pflanzenmaterial mittels SPE-LC-MS/MS. Methodenbeschreibung. BfR-PA-Tee-2.0/2014.
- CARVALHO, S., M. MACEL, P.P.J. MULDER, A. SKIDMORE, W.H. VANDER PUTTEN, 2014: Chemical variation in *Jacobaea vulgaris* is influenced by the interaction of season and vegetation successional stage. *Phytochemistry* **99**, 86–94, DOI: 10.1016/j.phytochem.2013.12.004.
- CHIZZOLA, R., G. BASSLER, M. KRIECHBAUM, G. KARRER, 2015: Pyrrolizidine alkaloid production of *Jacobaea aquatica* under different cutting regimes. *J Agric Food Chem* **63** (4), 1293–1299, DOI: 10.1021/jf5047927.
- FLADE, J., H. BESCHOW, M. WENSCH-DORENDORF, A. PLESCHER, W. WÄTJEN, 2019: Occurrence of nine pyrrolizidine alkaloids in *Senecio vulgaris* L. depending on developmental stage and season. *Plants* **2019**, 8, 54, DOI: 10.3390/plants8030054.
- HARTMANN, T., B. DIERICH, 1998: Chemical diversity and variation of pyrrolizidine alkaloids of the senecionine type. Biological need or coincidence? In: *Planta* **206** (3), 443–451, DOI: 10.1007/s004250050420.
- HARTMANN, T., M. ZIMMER, 1986: Organ-specific distribution and accumulation of pyrrolizidine alkaloids during the life history of two annual *Senecio* species. *J Plant Physiol* **122** (1), 67–80, DOI: 10.1016/S0176-1617(86)80085-2.
- HOL, W.H.G., 2011: The effect of nutrients on pyrrolizidine alkaloids in *Senecio* plants and their interactions with herbivores and pathogens. In: *Phytochem Rev* **10** (1), 119–126, DOI: 10.1007/s11101-010-9188-7.
- HOL, W.H.G., K. VRIELING, J.A., VAN VEEN, 2003: Nutrients decrease pyrrolizidine alkaloid concentrations in *Senecio jacobaea*. In: *New Phytol* **158** (1), 175–181, DOI: 10.1046/j.1469-8137.2003.00710.x.
- JOHNSON, A.E., R.J. MOLYNEUX, G.B. MERRILL, 1985: Chemistry of toxic range plants. Variation in pyrrolizidine alkaloid content of *Senecio*, *Amsinckia*, and *Crotalaria* species. *J Agric Food Chem* **33** (1), 50–55, DOI: 10.1021/jf00061a015.
- KARAM, F.S.C., M. HARAGUCHI, D.R. GARDNER, 2011: Seasonal variation in pyrrolizidine alkaloid concentration and plant development in *Senecio madagascariensis* Poir. (Asteraceae) in Brazil. In: F. Riet-Correa, J. Pfister, A. L. Schild and T. Wierenga (Hg.): Poisoning by plants, mycotoxins and related toxins. Wallingford: CABI, S. 179–185.
- LI, Y.H., W.L.T. KAN, N. LI, G. LIN, 2013: Assessment of pyrrolizidine alkaloid-induced toxicity in an in vitro screening model. In: *J Ethnopharmacol* **150** (2), 560–567, DOI: 10.1016/j.jep.2013.09.010.
- MITICH, L.W., 1995: Common groundsel (*Senecio vulgaris*). In: *Weed Technol* **9** (1), 209–211, DOI: 10.1017/S0890037X00023204.
- NURINGTYAS, T.R., R. VERPOORTE, P.G.L. KLINKHAMER, CHOI, YOUNG HAE, K.A. LEISS, 2015: Metabolomic study of diurnal variation on pyrrolizidine alkaloid from *Jacobaea sp.* hybrids. Conference Proceedings 4th International Conference and Exhibition on Metabolomics & Systems Biology, 27th–29th. April 2015. Philadelphia, USA. In: *Metabolomics* (Los Angel), Posters – Accepted Abstracts.
- ROBINSON, D.E.; J.T. O'DONOVAN, M.P. SHARMA, D.J. DOOHAN, R. FIGUEROA, 2003: The biology of Canadian weeds. 123. *Senecio vulgaris* L. *Can J Plant Sci* **83** (3), 629–644, DOI: 10.4141/P01-124.
- SCHAFFNER, U., K. VRIELING, E. VAN DER MELDEN, 2003: Pyrrolizidine alkaloid content in *Senecio*. Ontogeny and developmental constraints. *Chemoecology* **13** (1), 39–46, DOI: 10.1007/s000490300004.
- VRIELING, K., C.A.M. VAN WIJK, 1994: Cost assessment of the production of pyrrolizidine alkaloids in ragwort (*Senecio jacobaea* L.). In: *Oecologia* **97** (4), 541–546, DOI: 10.1007/BF00325894.
- WAHL, S., A. PLESCHER, 2017: Erfassung der Beikrautflora in Arznei- und Gewürzpflanzen-Beständen unter besonderer Berücksichtigung Pyrrolizidinalkaloid-haltiger Unkräuter. In: FNR (Hg.): Gülzower Fachgespräche. 3. Tagung Arzneipflanzenanbau in Deutschland – Mit koordinierter Forschung zum Erfolg. Schweinfurt, 20.-21.06.2017 (56), S. 84–97.


WIEDENFELD, H., 2011: Plants containing pyrrolizidine alkaloids. Toxicity and problems. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess* **28** (3), 282–292, DOI: 10.1080/19440049.2010.541288.

WIEDENFELD, H., J. EDGAR, 2011: Toxicity of pyrrolizidine alkaloids to humans and ruminants. *Phytochem Rev* **10** (1), 137–151, DOI: 10.1007/s11101-010-9174-0.


WILEN, C.A., 2006: Common groundsel: Pest Notes 2006; University of California, Agriculture and Natural Resources: Davis, CA, USA, 2006.

YABER GRASS, M.A., S.R. LEICACH, 2012: Changes in *Senecio grisebachii* pyrrolizidine alkaloids abundances and profiles as response to soil quality. In: *J Plant Interact* **7** (2), 175–182, DOI: 10.1080/17429145.2011.591504.

© Der Autor/Die Autorin 2020.

 Dies ist ein Open-Access-Artikel, der unter den Bedingungen der Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz (CC BY 4.0) zur Verfügung gestellt wird (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.de>).

© The Author(s) 2020.

 This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.en>).

Wolfram Junghanns, Merita Hammer

Pyrrrolizidinalkaloide – Reduzierung in Körnerfrüchten – Wunsch und Wirklichkeit

Reduction of Pyrrolizidine alkaloids content
in aromatic seed drugs
– Regulation and Practice

Zusammenfassung

Die auf Grund von Recherchen des Bundesamtes für Risikobewertung aufgezeigten Verunreinigungen von Kräutertees mit Pyrrolizidinalkaloiden (PA) und Tropanalkaloiden (TA) führten in den letzten drei Jahren zu vielen wissenschaftlichen und praktischen Arbeiten, um dieses Thema realistisch abbilden und eingrenzen zu können. Im gleichen Zeitraum wurden mehrere rechtliche Regelungen (Code of Practice), sowie auch Public Statements (EMEA) verfasst. Parallel hierzu wurden unter anderem in der Dr. Junghanns GmbH Korrekturmaßnahmen erarbeitet, um den Gehalt an PA und TA in Körnerfrüchten deutlich zu reduzieren.

Im Rahmen diese Arbeiten wurde gezeigt, wie effektiv diese Maßnahmen bei der Nachreinigung von Praxischargen waren. Innerhalb der letzten zwei Jahre wurden mehr als 100 Chargen mit einer Gesamtmenge von 600 Tonnen (330 Tonnen vom kontrollierten biologischen Anbau und 270 Tonnen vom konventionellen Anbau) gereinigt. Möglichkeiten und Grenzen verschiedener Trennverfahren werden hier anhand der Beispiele von Bitterfenchel, Süßfenchel, Kümmel und Anis erläutert.

Eine besondere Herausforderung stellte es dar, von dem bisherigen Reinheitsstandard von 99% zu einer Reinheit von 10 ppm und darunter zu gelangen. Dieses Ziel konnte bei über 90% aller aufgereinigten Chargen nach ein oder mehrmaligen Reinigungen erreicht wer-

den. Hiermit wird nachgewiesen, dass es möglich ist, mit entsprechender Expertise und erhöhten Kosten fast alle wegen PA und TA-Besatz gesperrten Chargen wieder verkehrsfähig zu machen.

Stichwörter: PA-Kontaminanten, Risiko, Regelungen, Reduzierung, Körnerdrogen, Reinigung, Reinheit

Abstract

The contamination of herbal teas with pyrrolizidine alkaloids (PA-s) and tropane alkaloids (TA-s), identified three years ago by the Federal Office for Risk Assessment, was a start point for many research studies on assessment and characterization of the risk as well as the development of methods for monitoring and minimization of the presence of PA-s in food and feed. During the same period, several Guidelines and regulation (Code of Practice) as well as Public Statements (EMEA) were drafted.

From the analysis of the available occurrence data and identification of potential risks along the entire process chain, Dr. Junghanns GmbH developed individual measures to significantly minimize the presence of PA-s and TA-s in aromatic seed drugs. Application of different mechanical separation processes on more than 100 batches (originated from the conventional and organic agriculture) of fennel, caraway, anise and other aromatic seed drugs shows how effective these measures were for

Affiliation

Dr. Junghanns GmbH, Aschersleben

Kontaktanschrift

Dr. Wolfram Junghanns, Dr. Junghanns GmbH, Aue 182, 06449 Aschersleben, Tel.: 03473-801126, Fax: 03473-801127, E-Mail: dr.junghanns.gmbh@t-online.de

Zur Veröffentlichung angenommen

13. März 2020

the cleaning of highly contaminated batches. Possibilities and limits of different separation processes are explained using the examples of bitter fennel, sweet fennel, caraway and anise.

It was a particular challenge to move from the previous purity standard of 99% to a purity of 10 ppm and below. This goal was achieved in more than 90% of all cleaned batches after one or more passes. This proves that it is possible to minimize the content of PA-s and TA-s, making so many rejected batches marketable again.

Key words: PA-contaminants, risk, regulation, minimization, seed drugs, mechanical separation, purity

Einleitung

Die auf Grund von Recherchen des Bundesamtes für Risikobewertung aufgezeigten Verunreinigungen (BUNDESINSTITUT FÜR RISIKOBEWERTUNG, 2013) von Kräutertees mit Pyrrolizidinalkaloiden (PA) und Tropanalkaloiden (TA) führten in den letzten fünf Jahren zu vielen wissenschaftlichen und praktischen Arbeiten, um dieses Thema realistisch abbilden und eingrenzen zu können. Im gleichen Zeitraum wurden mehrere rechtliche Regelungen (Code of Practice) (DITTRICH et al., 2016; BUNDESVERBAND DER PHARMAZEUTISCHEN INDUSTRIE E. V., 2016), sowie auch Public Statements (EMA) (HMPC, 2016) verfasst. Die daraufhin erlassenen Grenzwerte in pharmazeutischen Rohstoffen und Extrakten führten zu einer Umstellung der Rohwarenspezifikationen für pharmazeutische Rohstoffe und auch für Rohstoffe der Lebensmittelindustrie.

Aufgrund der neuen Grenzwerte und Richtlinien wurden viele Anbauverfahren modifiziert, Mitarbeiter geschult und das komplette Produktionsverfahren sowie die Musternahme überarbeitet. Parallel erfolgte die Intensivierung der manuellen Reinigung der Felder durch trainiertes und sensibilisiertes Personal, um durch dieses Gesamtpaket von Maßnahmen spezifikationskonforme Ware zu produzieren.

Da trotz dieser Anstrengungen immer wieder Chargen ermittelt werden, welche diese Werte nicht einhalten, war es nötig, Korrekturmaßnahmen zu erarbeiten, die eine Überarbeitung dieser Ware bis zur Konformität absichern. Hierzu wurde ein Maßnahmenpaket erarbeitet und an Praxischargen getestet. Ziel war es, 90% aller Chargen verkehrsfähig zu bekommen.

Als erster Schritt wurde die Problemstellung definiert. Das bedeutete, um eine Ware sinnvoll in ihrem TA- und PA-Gehalt zu reduzieren, müssen drei Kategorien von Kontaminanten entfernt werden:

1. Fremd Beimengungen wie beispielsweise Blatt-, Stengel- und Blütenteile von Kreuzkraut
2. Fremdsamen wie zum Beispiel Stechapfel- oder Nachtschattensamen
3. Anhaftungen wie beispielsweise Anhaftungen durch Fruchtsaft von schwarzem Nachtschatten während des Ernteprozesses.

Lösungsansätze zur Entfernung von Kontaminanten

Nach Definition der Problemstellung mussten Lösungsansätze gefunden und definiert werden, um die Kontaminanten sicher zu entfernen. Folgende Lösungsansätze wurden kombiniert:

1. Sieben der Ware
2. Sichten der Ware
3. Formsartierung der Ware
4. Optische Sortierung

Die vier Lösungsansätze müssen sinnhafterweise miteinander kombiniert und hintereinandergeschaltet werden. Am Beispiel einer Charge Bitterfenchel wird nun die Vorgehensweise erläutert.

1. Sieben der Ware

Beim Sieben der Ware werden in der Regel zu kleine oder zu große Fraktionen vom restlichen Warenstrom abgetrennt. Unter den vielen verschiedenen Siebvarianten werden meistens Rundlochsiebe oder Langlochsiebe verwendet. Rundlochsiebe sortieren eine Ware nach deren Länge. Langlochsiebe sortieren einer Ware nach deren Durchmesser bzw. Breite. Zur Abtrennung von PA's und TA's ist die Kombination von Rund- und Langlochsieben auf mehreren Siebebenen erforderlich (s. Abb. 1 und 2). Als Ergebnis der Siebung erhält man einen Untersieb-



Abb. 1. Rundlochsieb

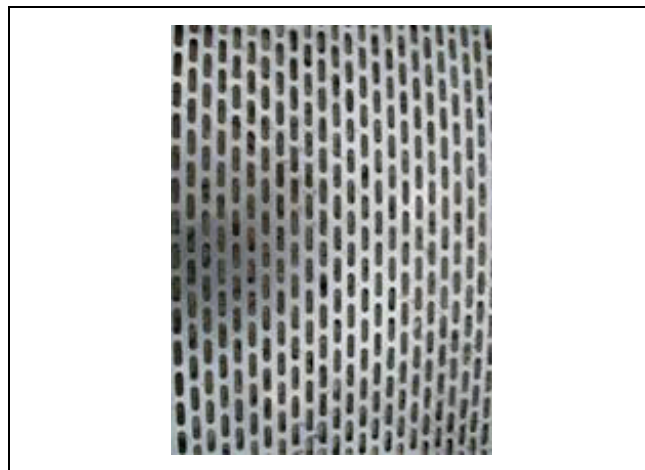


Abb. 2. Langlochsieb

abgang (Feinabtrennung) und einen Obersiebabgang (Grobabtrennung). Die Mittelfraktion wird der weiteren Sortierung im nächsten Verfahren zugeführt. In Abb. 3 und 4 sind die beiden abgetrennten Fraktion bildlich dargestellt.

2. Sichten der Ware

Nach dem Sieben erfolgt das Sichten. Hierbei wird die Mittelfraktion der Siebung in einen Luftstrom eingebracht, in welchem entweder die Leicht- oder die Schwerteile abgetrennt werden. Wir führen sowohl eine Leicht- als auch eine Schwergutabtrennung durch, welche hintereinander kombiniert sind. Das verwendete Verfahren ist in Abb. 5 dargestellt. In diesem Verfahren können relativ

sicher Warenströme anhand ihrer unterschiedlichen Dichte fraktionierte werden. Hier werden alle PA-Kontaminanten abgetrennt, welche leichter oder schwerer als der Fenchel sind. Teilweise ist es notwendig, dieses Verfahren mehrfach mit verschiedener Einstellung zu nutzen. Die hierbei abgetrennten Fraktionen sind in Abb. 6 und 7 ersichtlich, wobei in Abb. 6 alles zu sehen ist, was leichter als normaler Fenchel ist und in Abb. 7 alles, was schwerer als normaler Fenchel ist dargestellt wird.

3. Formsortierung

Die mittlere Fraktion, welche dieses Verfahren passiert hat, wird nun im dritten Schritt, der Formsartierung zugeführt. Die Formsartierung erfolgt mittels eines Trieurs.



Abb. 3. Untersiebabgang

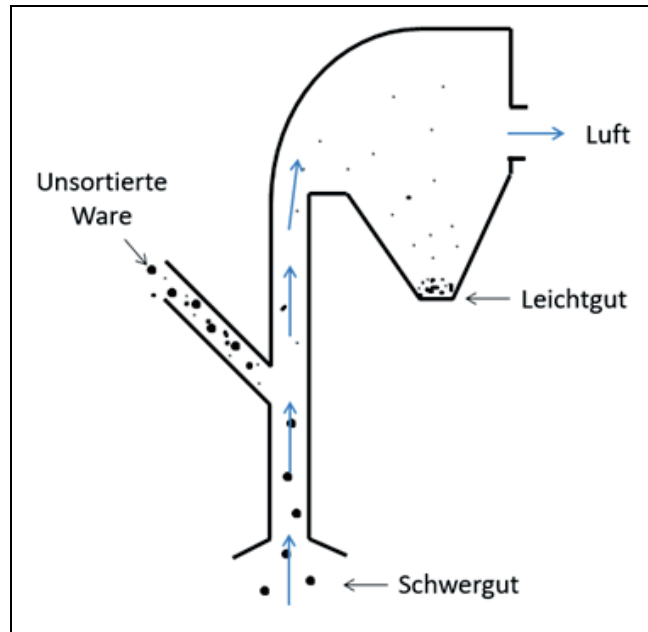


Abb. 5. Schwer- und Leichtgutabtrennung



Abb. 4. Obersiebabgang



Abb. 6. Leichtgutabgang



Abb. 7. Schwergutabgang



Abb. 9. Kurzkornauslese

Das sind lange zylindrische Walzen, in welchen halbkugelförmige Mulden eingepresst sind (s. Abb. 8). Bei Rotation dieser Zylinder kann durch angepasste Größe der Mulden die Ware mehr oder weniger stark über den Rutschpunkt hinaus transportiert werden und über eine separate Mulde aufgefangen werden. Je nach Einstellung der Maschine können kurze, runde oder längliche Objekte abgetrennt werden. Die Durchmesser der Halbschalen liegen zwischen 1,5 und 15 mm. Wir nutzen für die TA-Abtrennung mehrere Systeme hintereinander, welche sowohl kurze als auch lange Teile abtrennen (s. Abb. 9 und 10).

4. Optoelektronische Sortierung

Nach der Formsortierung wird der Warenstrom einer optoelektronischen Sortierung zugeführt. Hierbei können drei verschiedene Systemausführungen genutzt werden. Das sind monochromatische Systeme, die hauptsächlich auf unterschiedliche hell-dunkel Reaktionen hin

sortieren. Polychromatische Systeme hingegen nutzen die unterschiedlichen Farbreflexionsspektren des sichtbaren Spektralbereiches. Infrarot – und Nahinfrarotsysteme nutzen Wellenlängen dieses Spektralbereiches für die entsprechenden Selektionsentscheidungen. Wir nutzen ein Gerät, welches alle drei Systeme beinhaltet und damit eine sehr breite Kombinationspalette anbietet (s. Abb. 11).

Je nach Definition des Sortierbereiches werden alle falsch reflektierenden Bestandteile per Druckluft aus dem fallenden Warenstrom entfernt. Ein Sortierergebnis für Fenchel ist in Abb. 12 zu sehen.

Da optische Auslesesysteme sehr sensibel reagieren, ist die richtige Programmeinstellung besonders wichtig. Es ist notwendig, für verschiedene Chargen einer Art Programmalternativen zu haben, da immer eine chargengenaue Anpassung erfolgen muss, um den Sortiererfolg sicherzustellen. Eine solche Programmanpassung bedeutet einen Arbeitszeitaufwand zwischen zwei und zwölf Stunden.



Abb. 8. Trieur; links frontale Ansicht, rechts seitliche Ansicht



Abb. 10. Langkornauslese



Abb. 12. Abgang der optischen Auslese

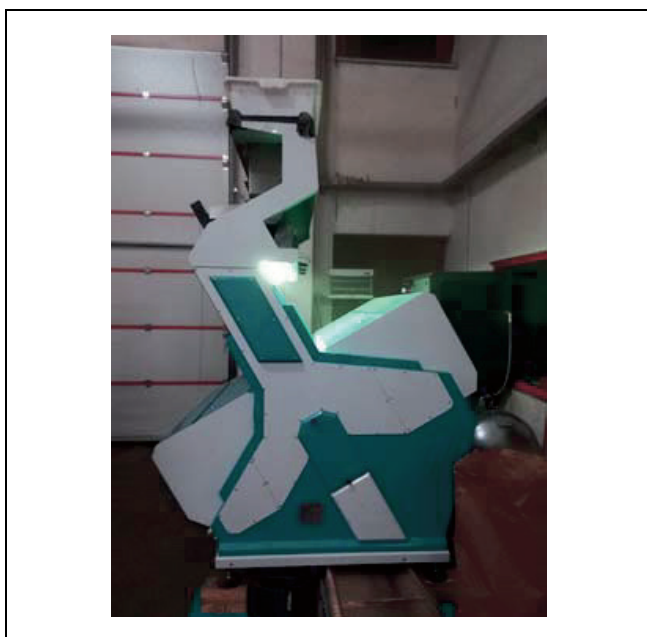


Abb. 11. Optoelektronische Sortierung

Innerhalb der letzten vier Jahre wurden bei uns mehrere hundert Chargen mit einer Gesamtmenge von über 1000t (600t KBA, 400t konventionell) gereinigt. Die erzielten Ergebnisse sind in Tabelle 1 dargestellt.

Eine besondere Herausforderung ist, von dem bisher üblichen Reinheitsgrad von 99% zu einer Reinheit von 10ppm zu gelangen, welche benötigt wird, um Ware sicher verkehrsfähig zu machen. Dieses Ziel konnte bei über 90% aller aufgereinigten Chargen nach ein oder mehrmaligen Reinigungen erreicht werden. Hiermit wird nachgewiesen, dass es möglich ist, mit entsprechender Expertise und erhöhten Kosten fast alle wegen PA- und TA-Besatz gesperrten Chargen wieder verkehrsfähig zu machen.

Zusammenfassend kann man feststellen, dass bei ein- oder mehrmaliger Reinigung nahezu 100% aller Fremdsaaten und fremden Pflanzenteile abtrennbar sind. Damit können mehr als 90% aller Chargen mit ein- oder mehrmaliger Reinigung wieder in verkehr gebracht werden. Ungelöst bzw. schwierig zu lösen ist das Problem der Anhaftungen. Diese können nur im Multispektralbereich sicher erfasst und abgetrennt werden. Hierzu besteht noch weiterer Forschungsbedarf.

Tab. 1. Erzielte Nachreinigungsergebnisse der letzten Jahre

Fruchtart	Chargenanzahl	Menge in t	PA (µg/kg) vor Reinigung	TA (µg/kg) vor Reinigung	PA (µg/kg) nach Reinigung	TA (µg/kg) nach Reinigung	Abgänge in %
Bitterfenchel	14	84	n.n.	1,30–260	n.n.	n.n.	8,40
Süßfenchel	64	110	1,1–284	1,3–140	n.n.–16	n.n.	6,4
Kümmel	12	270	n.n.	1,2–184	n.n.	n.n.	9,35
Anis	84	116	1,5–7339	n.n.	n.n.–1300	n.n.	8,85
Kreuzkümmel	8	26	1,8–168	n.n.–60	n.n.–10	n.n.	11

Interessenskonflikte


Die Autoren erklären, dass keine Interessenskonflikte vorliegen.

Literatur


- BUNDESINSTITUT FÜR RISIKOBEWERTUNG, 2013: Stellungnahme 08/2013: Pyrrolizidinalkaloide in Kräutertees und Tees.
- BUNDESVERBAND DER PHARMAZEUTISCHEN INDUSTRIE E. V., 2016: Code of Practice to prevent and reduce pyrrolizidine alkaloid contaminations of medicinal products of plant origin. Online verfügbar unter <https://www.journals.elsevier.com/journal-of-applied-research-on-medicinal-and-aromatic-plants/news/code-of-practice-to-prevent-and-reduce-pyrrolizidine-alkaloi>.
- DITTRICH, H., K. HÖSEL, H. SIEVERS, B. KLIER, F. WAIMER, H. HEUBERGER et al., 2016: Code of Practice zur Vermeidung und Verringerung von Kontaminationen pflanzlicher Arzneimittel mit Pyrrolizidinalkaloiden. *Pharmazeutische Industrie* **78**, 836-845.

HMPC, 2016: Public Statement on contamination of herbal medicinal products/traditional herbal medicinal products with pyrrolizidine alkaloids – Transitional recommendations for risk management and quality control (EMA/HMPC/328782/2016). 31 May 2016. Zugriff: 3. November 2019, online verfügbar unter: https://www.ema.europa.eu/documents/public-statement/public-statement-contamination-herbal-medicinal-products/traditional-herbal-medicinal-products-pyrrolizidine-alkaloids_en.pdf.

© Der Autor/Die Autorin 2020.

 Dies ist ein Open-Access-Artikel, der unter den Bedingungen der Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz (CC BY 4.0) zur Verfügung gestellt wird (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.de>).

© The Author(s) 2020.

 This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.en>).

Mitteilungen und Nachrichten

Aus den Arbeitskreisen der Deutschen Phytomedizinischen Gesellschaft (DPG):

22. Treffen des Arbeitskreises Wirbeltiere der Deutschen Phytomedizinischen Gesellschaft

Jens Jacob¹, Stefan Endepols²

Am 26. und 27. November 2019 fand das 22. Treffen des Arbeitskreises Wirbeltiere der Deutschen Phytomedizinischen Gesellschaft (DPG) in der Kreisstelle der Landwirtschaftskammer Nordrhein-Westfalen in Köln-Auweiler statt. Für die Nutzung der Räumlichkeiten danken wir den Unterstützerinnen vor Ort herzlich. Dieses Treffen wurde wie auch in den Vorjahren mit der Tagung des DPG Arbeitskreises Vorratsschutz so abgestimmt, dass ein fließender Übergang gewährleistet wurde, so dass an Wirbeltierforschung und am Vorratsschutz Interessierte gut an beiden Veranstaltungen teilnehmen konnten.

Die ca. 30 Teilnehmenden aus Universitäten, außeruniversitären Forschungseinrichtungen, Bundes- und Landesbehörden, Industrie und Schädlingsbekämpfung tauschten sich intensiv über neue Informationen und Erfahrungen in Forschung und Anwendung zu verschiedenen Aspekten im Bereich Wirbeltiere aus. Dabei standen die Themen Feldmausbiologie und -management (Befallssituation in Deutschland und Europa, Reproduktionsmanagement, Anwendungsaufgaben für Produkte mit Zinkphosphid), Rodentizidresistenz und -rückstände in Nichtzielarten, Tierseuchenprävention, Toxiko-Kinetik von Pflanzenschutzmitteln sowie Nagetier-übertragene Pathogene im Vordergrund.

Der Hauptvortrag wurde von Dr. Rainer Hutterer (ehem. Kustos und Abteilungsleiter im Zoologischen Forschungsmuseum Alexander Koenig, Bonn) gehalten. Herr Hutterer präsentierte den aktuellen Stand zur Taxonomie europäischer Säugtiere, aus dem hervorging, dass sich in den letzten 20 Jahren der taxonomische Status bei über 30 Wirbeltierarten (Maulwürfe, Spitzmäuse, Nagetiere, Fledermäuse, Huftiere) änderte oder sogar neue Arten entdeckt wurden.

Auf der Exkursion des Arbeitskreises wurde eine Stützungsansiedlung des Feldhamsters im Rhein-Erft-Kreis besichtigt. Anja Pflanz vom Amt für Kreisentwicklung und Ökologie erläuterte den Teilnehmenden freundlicherweise die Nachzucht der Tiere in Gefangenschaft über die Aussiedlung auf geschützten Landwirtschaftsflächen bis zum aktuellen Stand der Populationsentwicklung dieser heutzutage seltenen und streng geschützten Nagetierart.

Das nächste Treffen des DPG Arbeitskreises Wirbeltiere wird 2021 stattfinden.

Aktueller Zulassungsstand zu Rodentiziden – Neues aus der Bundesbehörde

Roger Waldmann

Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit,
Abt. Pflanzenschutzmittel, Messeweg 11/12, 38104 Braunschweig
E-Mail: roger.waldmann@bvl.bund.de

Neben einem aktuellen Bericht zum Zulassungsstand wird über den aktuellen Stand zu den strittigen Anwendungsbestimmungen berichtet.

Projekt ResRaMa – Management von resistenten Wanderratten (*Rattus norvegicus*): Monitoring und Strategieentwicklung zur Prävention Nagetier-übertragener Krankheiten

Sabine C. Hansen¹, Nicole Klemann², Alexandra Esther¹

¹Julius Kühn-Institut (JKI) – Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Pflanzenschutz in Gartenbau und Forst, Arbeitsbereich Wirbeltiere, Toppheideweg 88, 48161 Münster

²Consultant für Nagerforschung und -management, Warendorf
E-Mail: sabine.hansen@julius-kuehn.de

Wanderratten (*Rattus norvegicus*) leben in unmittelbarer Nähe zum Menschen und verursachen erhebliche Verluste in der Vorratshaltung. Klimaveränderungen können den Anstieg von Rattenpopulationen begünstigen. Die Rolle der Nagetiere als Überträger (Vektoren) von verschiedenen menschlichen und tierischen Krankheiten nimmt folgerichtig zu. Es fehlen zum einem Monitoringdaten von Human- und Tierpathogenen in Wanderratten und zum anderen zuverlässigen Präventions- und Managementvorschläge für Landwirte in Deutschland. Besonders muss dabei berücksichtigt werden, dass die Ratten genetisch bedingte Resistenzen gegen die weniger toxischen, antikoagulant Rodentizide entwickelt haben. Im Projekt wird eine nachhaltige Managementstrategie entwickelt, wofür Monitoringdaten zu Resistenz, Migration, Krankheitserregern und Rodentizidrückstände in den Tieren, in Kombination mit verschiedenen Hygienemaßnahmen gesammelt werden. Diese Strategie soll

Affiliationen

Julius Kühn-Institut (JKI) – Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Pflanzenschutz in Gartenbau und Forst – Wirbeltierforschung –, Münster¹
Bayer AG, CropScience R&D, FS – Public Health²

Kontaktanschrift

Julius Kühn-Institut (JKI) – Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Pflanzenschutz in Gartenbau und Forst – Wirbeltierforschung –, Toppheideweg 88, 48161 Münster, E-Mail: jens.jacob@julius-kuehn.de

nicht nur den nachhaltigen Schutz von Mensch und Nutztieren vor Zoonoseüberträger unterstützen, sondern auch vorbeugend vor der Neubesiedelung von Ratten schützen. Es werden bereits durchgeführte und geplante Methoden vorgestellt, sowie die Analysemethoden für die Erstellung der Managementstrategie.

Tierseuchenprävention am Beispiel von betriebsübergreifenden Schadnagerbekämpfungsmaßnahmen

Odile Hecker, Anna Schulze Walgern, Marcus Mergenthaler, Marc Boelhaue
 Fachhochschule Südwestfalen, Fachbereich Agrarwirtschaft, Lübecker Ring 2, 59494 Soest
 E-Mail: hecker.odile@fh-swf.de

Wanderratten sind aufgrund der guten Lebensbedingungen auf landwirtschaftlichen Betrieben weit verbreitet. Sie sind zudem Vektoren für die Übertragung verschiedener Infektionskrankheiten und Parasiten auf Menschen und Nutztiere. Grundsätzlich besteht damit neben der Übertragung von Krankheitserregern auf die Nutztiere auch das Risiko einer Erregerverschleppung durch die Schadnager von einem landwirtschaftlichen Betrieb auf den Anderen. Die Bekämpfung von Schadnagern wird deshalb als eine wichtige Hygienemaßnahme zur Gesunderhaltung von Tierbeständen gesehen, jedoch beschränken sich bestehende Bekämpfungskonzepte, ohne die Risiken einer Erregerverschleppung zu berücksichtigen, auf einzelbetriebliche Strukturen. Ziel des Projektes ist es, zusammen mit Landwirten betriebsübergreifende Schadnagerbekämpfungskonzepte in einer Gemeinde mit hoher Dichte landwirtschaftlicher Nutztiere umzusetzen. Im Rahmen des Projektes „Flächendeckende Schadnagerbekämpfung zur Früherkennung von Tierseuchenerregern und Reduktion des Verschleppungspotentials“ (gefördert durch die Tierseuchenkasse NRW) haben Landwirte die Möglichkeit, die Schadnagerbekämpfung in Zusammenarbeit mit einem professionellen Schädlingsbekämpfer zu optimieren. Die Beauftragung der Schädlingsbekämpfer wird dabei über die Projektjahre abnehmend teilfinanziert. Neben der Untersuchung tot aufgefundener Ratten auf Krankheitserreger, Verwandtschaftsbeziehungen und Resistenzen gegen Antikoagulantien, soll zudem untersucht werden, wie hoch der Bekämpfungserfolg bei routinemäßigen Bekämpfungsmaßnahmen im Seuchenfall ist. Ziel ist es, Distanzen und Wege überlebender Ratten zu ermitteln, wenn sie ihren Lebensraum im Rahmen intensiver Bekämpfungsmaßnahmen mit Entzug der Futterquelle verändern. Um das Risiko einer Erregerverschleppung zwischen landwirtschaftlichen Betrieben einschätzen zu können, sollen daher die Bewegungsmuster von Wanderratten auf ausgewählten Betrieben mit Radiotelemetriesendern überwacht werden.

Danksagung: Diese Arbeit wird von der Tierseuchenkasse Nordrhein-Westfalen gefördert. Wir danken allen beteiligten Projektpartnern und teilnehmenden Landwirten.

Aktuelle Befallssituation Feldmaus in Europa

Jens Jacob, Christian Imholt
 Julius Kühn-Institut (JKI) – Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Pflanzenschutz in Gartenbau und Forst – Wirbeltierforschung –, Topphedeweg 88, 48161 Münster
 E-Mail: jens.jacob@julius-kuehn.de

Massenvermehrungen von Nagetieren wie Feldmäusen (*Microtus arvalis*) treten in weiten Teilen Europas etwa alle 3–5 Jahre

auf, in denen die Tiere massenhaft Agrar- und Forstflächen befallen und hohe wirtschaftliche Schäden verursachen. Oft sind diese Massenvermehrungen über weite Gebiete synchron und wirken sich nicht nur im Pflanzenschutz, sondern auch im Gesundheits- und Artenschutz negativ aus.

Im Jahr 2019 ist in vielen Teilen Europas ein massiver Anstieg der Feldmauspopulationen zu verzeichnen. So wurden in den Niederlanden und Spanien bereits im Sommer Populationsgrößen erreicht, die 6 bis 7,5-fach über dem Mittel der letzten Jahre lagen. In Deutschland, Tschechien und Ungarn lag dieser Wert bei 2–2,5, allerdings stieg die Populationsgröße z.B. in Niedersachsen und Mecklenburg-Vorpommern deutlich stärker an. Ähnliches wurde aus Österreich berichtet, während in Frankreich die Feldmauspopulationen bis zum Sommer stabil niedrig waren.

Diese Situation spricht dafür, dass es bereits bei den Winterkulturen zu erheblichen Problemen kommen wird. Sollten die Feldmauspopulationen das Winterhalbjahr gut überstehen, dürfte sich die Lage im kommenden Jahr erheblich verschärfen.

Trotz der periodisch immer wiederkehrenden Probleme mit Feldmäusen im Pflanzenschutz hat sich die Mittelverfügbarkeit in den letzten Jahren in der EU stark eingeschränkt. In Deutschland ist nur noch ein Wirkstoff (Zinkphosphid) zur Populationsregulierung zugelassen. Neu erlassene Anwendungsbestimmungen machen es hierzulande für viele Landwirte kaum mehr möglich, Schäden durch Feldmaus-Massenvermehrungen zu minimieren.

Ausbreitungsdynamik von Nagetieren und Hantaviren in Waldfragmenten

Diana Below¹, Christian Imholt¹, Hendrik Ennen¹, Jana Eccard², Jens Jacob¹

¹Julius Kühn-Institut (JKI) – Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Pflanzenschutz in Gartenbau und Forst, Topphedeweg 88, 48161 Münster

²Universität Potsdam, Professur für Tierökologie, Maulbeerallee 1, 14469 Potsdam

E-Mail: diana.below@julius-kuehn.de

Die Fragmentierung von Lebensräumen durch künstliche Landschaftsveränderungen wie Urbanisierung oder Modifikationen von natürlichen Lebensräumen in landwirtschaftlich genutzten Flächen, kann sich negativ auf die dort angesiedelten Taxa auswirken. Die Abnahme von Landschaftselementen, also geeignete freie Lebensräume, kann die Wiederbesiedlung durch Wildtiere, beispielsweise nach einem Populationszusammenbruch, minimieren.

Kleinsäugertaxa sind ein hervorragendes Studienobjekt zur Untersuchung von Wiederbesiedlungsprozessen. Einige Nagetierpopulationen haben drastische Schwankungen in ihrer Häufigkeit. Auf Maxima alle 3 bis 5 Jahre folgen plötzliche Rückgänge mit sehr niedrigen Abundanz. In solchen Situationen können Nagetiere und dazugehörige zoonotische Krankheitserreger in einigen Habitatfragmenten verschwinden, während sie in anderen noch vorhanden sind. Ein gutes Beispiel für diese Situation ist die Rötelmaus (*Clethrionomys glareolus*) und der Puumala Orthohantavirus (PUUV). Es ist bisher unklar, welche Faktoren die Wiederbesiedlungsprozesse von Nagetieren und PUUV nach mehrmonatiger bis zu 2-jähriger andauernder Abwesenheit steuern.

Wir haben die Konnektivität der von Landwirtschaft geprägten Matrix zwischen 13 Waldfragmenten bestimmt. Die Konnektivität basiert auf Landnutzungsparametern und Habitatkartierungen. Diese Informationen wurden verwendet, um Habitatdurchlässigkeitskarten, spezifisch für Rötelmäuse auf

der Landschaftsskale zu erstellen. Darüber hinaus wurde der Grad der Durchlässigkeit der Landschaft zwischen allen Fangplots zu verschiedenen Jahreszeiten berechnet. Die Berechnungen basieren auf unterschiedlichen Graden der räumlichen Auflösung. Mögliche Routen zwischen den Fangplätzen waren je nach Jahreszeit und räumlicher Auflösung unterschiedlich.

In einer späteren Phase der Studie werden genetische Analysen genutzt, um die aus den Karten abgeleiteten Vorhersagen zu validieren. Die Karten, sowie der Grad der Landschaftsdurchlässigkeit zwischen Waldfragmenten können verwendet werden, um Muster der Wiederbesiedlung durch Rötelmäuse oder Schadnager zu identifizieren.

Feldmausmanagement durch Geburtenkontrolle

Kyra Jacoblinnert, Jens Jacob

Julius Kühn-Institut (JKI) – Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Pflanzenschutz in Gartenbau und Forst, Arbeitsbereich Wirbeltiere, Toppheideweg 88, 48161 Münster
E-Mail: kyra.jacoblinnert@julius-kuehn.de

Die Feldmaus (*Microtus arvalis*) ist einer der am weitest verbreiteten Nagetierarten in Europa. Etwa alle 2–5 Jahre kommt es zu einer Massenvermehrung, bei der nicht nur massive Ernteschäden entstehen, sondern auch die Risiken für zoonotisch übertragene Krankheiten für Mensch und Tier ansteigen können.

Da Schadnagermanagement größtenteils auf Rodentizidanwendungen basiert und nur ein Wirkstoff zur Bekämpfung von Feldmäusen in Deutschland zugelassen ist, werden Alternativen dringend benötigt. Der Pflanzenwirkstoff Triptolid (TP) und 4-Vinylcyclohexen Diepoxid (VCD) sind dafür bekannt die Reproduktion bei anderen Nagetierarten zu beeinträchtigen und könnten dabei helfen, Massenvermehrungen zu dämpfen.

Um dies zu untersuchen, werden die Feldmäuse mit Lebendfallen gefangen und einzeln in Makrolonkäfigen gehalten. Anschließend wird den Tieren ein flüssiger Köder, der die beiden Wirkstoffe VCD und TP enthält, angeboten, um die freiwillige Köderaufnahme innerhalb der folgenden Tage zu testen und auf Wirkstoffrückstände zu prüfen. Außerdem sollen die Reproduktionsorgane, Reproduktionsaktivität, Wurfgröße und Uterusnarben analysiert werden.

Zusätzlich wird der Ködermarker Iophenoxic acid (IPA) in einem weiteren Experiment verwendet, um verschiedene Bekämpfungsstrategien für zukünftige Reproduktionshemmer zu vergleichen. Die Etablierung eines Dosis-Rückstands-Verhältnis für IPA in Feldmäusen soll helfen, zwei Strategien zur Köderausbringung sowohl in Gehegen als auch im Freiland zu testen.

Fertilitätsmanagement könnte das Populationswachstum soweit eindämmen, dass die Feldmäuse kein ernsthaftes Risiko für Kulturpflanzen darstellen, aber gleichzeitig ihre Rolle im Ökosystem aufrechterhalten wird. Damit dürfte auch dem Tierchutzgedanken Rechnung getragen und das Risiko für Nicht-Zielarten minimiert werden.

BayTool – Verbessertes Program für Training, Planung und Dokumentation in der Schadnagerbekämpfung für Landwirte

Stefan Endepols

Bayer AG Division CropScience R&D Public Health, D-40789 Monheim
E-Mail: stefan.endepols@bayer.com

Das Programm BayTool® wurde als frei zugängliche Software für die Planung und Dokumentation in der Schadnagerbekämpfung,

speziell für tierhaltende Landwirte, entwickelt und erfolgreich in der Praxis eingesetzt: Das Hygienemanagement konnte dadurch verbessert werden. Allerdings hat sich das regulatorische Umfeld seitdem erheblich verändert. Zahlreiche Gesetze und Verordnungen für den Umgang mit Bekämpfungsmitteln wurden verschärft, was zu Verunsicherung beim Anwender, und zu erhöhtem Aufwand in der Praxis führte. Deshalb wurde ein komplett neues BayTool entwickelt, das nun kurz vor der ersten Erprobung in der Praxis steht. Darin wird dem Landwirt eine alle relevanten Themen umfassende Schulung geboten, ein umfangreiches Nachschlagewerk und die bekannten, nun erweiterten und verbesserten Möglichkeiten für die Planung und Dokumentation der Schadnagerbekämpfung. Das Programm soll dem Landwirt helfen, Praxis und Nachhaltigkeit im Schadnagermanagement zu verbessern.

Toxikokinetik von Pflanzenschutzmitteln bei der Feldmaus

Christian Imholt, Jens Jacob

Julius Kühn-Institut (JKI) – Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Pflanzenschutz in Gartenbau und Forst – Wirbeltierforschung –, Toppheideweg 88, 48161 Münster
E-Mail: christian.imholt@julius-kuehn.de

Für die Risikoabschätzung bei der Anwendung von Pflanzenschutzmitteln ist die Feldmaus (*Microtus arvalis*) die generische Fokusart für akute und chronische Risiken kleiner Pflanzenfresser für fast alle Kulturen, weil diese Art aufgrund ihrer biologischen und ökologischen Eigenschaften am ehesten auf Rückstände reagiert. Bisherige Risikoabschätzungen basieren auf dem Wirkstoffabbau bei Laborarten, welche dann aufgrund theoretischer Expositionsannahmen auf die eigentliche Zielart übertragen werden. Hier könnten populationskinetische Modelle basierend auf der Physiologie der Zielart eine sinnvolle Ergänzung in der Risikoabschätzung sein.

In dieser Studie wurden exemplarisch die Abbauraten fungizider Wirkstoffe (proof of concept) in Labor-, Gehege- und Freilandapplikationen bei der Feldmaus erhoben. Die Daten flossen anschließend als Parameter in toxikokinetische Populationsmodelle für die Risikoabschätzung bei der Anwendung von Pflanzenschutzmitteln ein. Laborexperimente umfassten unterschiedliche Applikationen einer Kombination der beiden fungiziden Wirkstoffe Fludioxonil und Cyprodinil mit Schlundsonden von Konzentrationen zwischen 1 mg/kg und 200 mg/kg, sowie eine intravenöse Verabreichung. Weitere Versuche unter semi-natürlichen/natürlichen Bedingungen mit behandeltem Gras wurden in Käfigen, Gehegen und im Freiland durchgeführt. Wiederholtes Microsampling (10 µl) erlaubte die Charakterisierung der Abbaurate von beiden Wirkstoffen im Blut der Tiere.

Die Wirkstoffkonzentrationen wiesen immer eine hohe individuelle Variabilität auf, die von der Applikationsmethode abhängig war. Die intravenöse Applikation zeigte die geringste proportionale Variabilität zwischen den Individuen und die höchsten gemessenen Blutkonzentrationen aller Applikationsmethoden. In allen Futtersuchen zeigte sich ebenfalls eine hohe individuelle Variabilität, die u.a. vom Alter der Tiere abhing. Die von den entwickelten Populationsmodellen prognostizierte Exposition zeigte eine gute Übereinstimmung mit den gemessenen Rückständen der Feldmäuse aus den Gehege- und Freilandversuchen.

Die Daten, die in dieser Versuchsreihe generiert wurden, konnten die Abbauraten fungizider Wirkstoffe im Blut adäquat beschreiben und wichtige demographische Faktoren identifizieren.

ren, welche die Rückstandsdynamik beeinflussen. Die entwickelten Modelle können bestehende Prozesse der Risikobewertung sinnvoll ergänzen und verbessern.

Rückstände antikoagulanter Rodentizide in Nichtzielorganismen während fachgerechter Rattenbekämpfungen auf landwirtschaftlichen Betrieben

Bernd Walther¹, Anke Geduhn^{1,2}, Detlef Schenke³, Marion Reilly¹, Annika Schlötelburg², Jens Jacob¹

¹Julius Kühn-Institut (JKI) – Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Pflanzenschutz in Gartenbau und Forst – Wirbeltierforschung –, Topphaideweg 88, 48161 Münster

²Umweltbundesamt, Bötticher Straße 2 (Haus 23), Dahlemer Dreieck, 14195 Berlin

³Julius Kühn-Institut (JKI) – Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für ökologische Chemie, Pflanzenanalytik und Vorratsschutz, Königin-Luise-Straße 19, 14195, Berlin
E-Mail: bernd.walther@julius-kuehn.de

Zur Bekämpfung von Schadnagern werden in Tierhaltungsbetrieben vor allem antikoagulante Rodentizide (AR) eingesetzt. Dabei können Nichtzielorganismen gefährdet sein, die aufgrund ihrer geringen Körpergröße in Köderboxen eindringen und AR aufnehmen können. Um dieses Risiko einzuschätzen, wurden Kleinsäuger und Singvögel auf AR-Rückstände untersucht, die zwischen 2011–2015 während fachgerechter Rattenbekämpfungen im Münsterland (NRW) gesammelt wurden. Außerdem wurde untersucht, wie sich die AR-Anwendung nur innerhalb von Gebäuden (iG) im Vergleich zur Anwendung in und um Gebäude (iuG) auf die Belastung von Kleinsäufern auswirkt. Der für die Rattenbekämpfungen eingesetzte Wirkstoff Brodifacoum (BR) wurde in 40% der Kleinsäuger (N = 315) und in 27% der Singvögel (N = 222) gefunden. Bei den Kleinsäufern waren bei Köderauslage iG (26%) nur etwa halb so viele

Tiere belastet wie bei Köderauslage iuG (54%) und auch die mittlere BR-Konzentration war bei Anwendung iG (617 ng/g) nur etwa halb so hoch wie bei Anwendung iuG (1409 ng/g). Echte Mäuse und Spitzmäuse waren öfter und stärker belastet als Wühlmäuse. Bei sechs der 13 untersuchten Singvogelarten wurden BR-Rückstände gefunden. Am häufigsten belastet waren Rotkehlchen (*Erithacus rubecula*, 46%), Heckenbraunellen (*Prunella modularis*, 39%) und Kohlmeisen (*Parus major*, 21%). Die BR-Konzentrationen lagen zwischen 4–7809 ng/g (\bar{O} = 123 ng/g). Die höchsten Einzelwerte traten bei Kohlmeisen und Rotkehlchen auf. Die Ergebnisse zeigen, dass Kleinsäuger und Singvögel gegenüber fachgerecht ausgebrachten AR exponiert sind. Um diese Exposition zu reduzieren, sollten Köderboxen möglichst in Bereichen mit beschränktem Zugang oder mit zusätzlichem Schutz aufgestellt werden. Weitere Studien sind notwendig, um die AR-Aufnahme durch Nichtzielorganismen zu minimieren, gleichzeitig aber eine optimale Köderaufnahme durch Schadnager zu gewährleisten.

Veränderungen in der Taxonomie europäischer Säugetiere

Rainer Hutterer

Zoologisches Forschungsmuseum Alexander Koenig, 53113 Bonn

Die Benennung der ungefähr 250 europäischen Säugetierarten und ihre Kenntnis sind immer noch nicht stabil. Neue Arten werden immer wieder entdeckt oder durch verfeinerte Methoden „enttarnt“. Hier wird über 30 Arten berichtet, deren Status zwischen 2001 und 2019 verändert wurde, oder die in dieser Zeit neu entdeckt wurden. Unter diesen Arten sind zwei Maulwürfe, sechs Spitzmäuse, zwölf Nagetiere, sechs Fledermäuse und 4 Huftiere. Die meisten dieser Arten wurden in Südeuropa entdeckt, aber einige auch mitten in Deutschland. Der Status einiger Huftiere Europas ist noch völlig ungeklärt und bedarf weiterer Forschung.

Literatur

Annual Review of Entomology, Volume 65, 2020 Eds.: May R. BERENBAUM, Ring T. CARDÉ, Gene E. ROBINSON, Palo Alto, California, USA, Annual Reviews, 501 S., ISBN 978-0-8243-0165-1, ISSN 0066-4170.

Band 65 beginnt mit dem Vorwort von John TRUMBLE.

Übersichtsartikel aus dem Gesamtgebiet der Entomologie schließen sich an:

A Life's Journey Through Insect Metamorphosis (Lynn M. RIDDIFORD); Invasion Biology, Ecology, and Management of Western Flower Thrips (Stuart R. REITZ, Yulin GAO, William D.J. KIRK, Mark S. HODDLE, Kirsten A. LEISS, Joe E. FUNDERBURK); Influence of Nesting Characteristics on Health of Wild Bee Communities (Alexandra HARMON-THREATT); Sexual Size Dimorphism: Evolution and Perils of Extreme Phenotypes in Spiders (Matjaž KUNTNER, Jonathan A. CODDINGTON); Balancing Disturbance and Conservation in Agroecosystems to Improve Biological Control (John F. TOOKER, Matthew E. O'NEAL, Cesar RODRIGUEZ-SAONA); Ecology of Terrestrial Arthropods in Freshwater Wetlands (Darold P. BATZER, Haitao WU); The Insect Circulatory System: Structure, Function, and Evolution (Julián F. HILLYER, Günther PASS); Versatile and Dynamic Symbioses Between Insects and *Burkholderia* Bacteria (Martin KALTENPOTH, Laura V. FLÓREZ); Microbial Symbionts of Parasitoids (Marcel DICKE, Antonino CUSUMANO, Erik H. POELMAN); The Global Expansion of Dengue: How *Aedes aegypti* Mosquitoes Enabled the First Pandemic Arbovirus (Oliver J. BRADY, Simon I. HAY); Global Trends in Bumble Bee Health (Sydney A. CAMERON, Ben M. SADD); Botanical Insecticides in the Twenty-First Century-Fulfilling Their Promise? (Murray B. ISMAN); Insect Sterol Nutrition: Physiological Mechanisms, Ecology, and Applications (Xiangfeng JING, Spencer T. BEHMER); Insect-Resistant Genetically Engineered Crops in China: Development, Application, and Prospects for Use (Yunhe LI, Eric M. HALLERMAN, Kongming WU, Yufa PENG); Mechanisms, Applications, and Challenges of Insect RNA Interference (Kun Yan ZHU, Subba Reddy PALLI); Chikungunya

Virus: Role of Vectors in Emergence from Enzootic Cycles (Scott C. WEAVER, Rubing CHEN, Mawlouth DIALLO); Resistance to the Fumigant Phosphine and Its Management in Insect Pests of Stored Products: A Global Perspective (Manoj K. NAYAK, Gregory J. DAGLISH, Thomas W. PHILLIPS, Paul R. EBERT); Ecology of *Francisella tularensis* (Sam R. TELFORD III, Heidi K. GOETHERT); Dormancy, Diapause, and the Role of the Circadian System in Insect Photoperiodism (David S. SAUNDERS); Non-Bee Insects as Visitors and Pollinators of Crops: Biology, Ecology, and Management (R. RADER, S.A. CUNNINGHAM, B. G. HOWLETT, D.W. INOUE); Pesticide-Induced Planthopper Population Resurgence in Rice Cropping Systems (Jincai WU, Linquan GE, Fang LIU, Qisheng SONG, David STANLEY); Ecology and Evolution of Insect-Fungus Mutualisms (Peter H.W. BIEDERMANN, Fernando E. VEGA); Insect Declines in the Anthropocene (David L. WAGNER).

Im Anschluss an das Inhaltsverzeichnis des Bandes 65 wird auf fachlich verwandte Beiträge in anderen „Annual Reviews“ verwiesen, beispielsweise:

Im **Annual Review of Genetics**, Volume 53 (2019):

Drosophila Myoblast Fusion: Invasion and Resistance for the Ultimate Union (Donghoon M. LEE, Elizabeth H. CHEN); Evolutionary Ecology of *Wolbachia* Releases for Disease Control (Peran A. ROSS, Michael TURELLI, and Ary A. HOFFMANN); Genetic Screens to Analyze Pattern Formation of Egg and Embryo in *Drosophila*: A Personal History (Trudi SCHÜPBACH); The *foraging* Gene and Its Behavioral Effects: Pleiotropy and Plasticity (Ina ANREITER, Maria B. SOKOLOWSKI).

Im **Annual Review of Virology**, Volume 6 (2019):

Deformed Wing Virus in Honeybees and Other Insects (Stephen J. MARTIN, Laura E. BRETTELL).

Band 65 wird durch einen kumulierenden Index aller an den Bänden 56 bis 65 beteiligten Autoren ergänzt. Zusätzlich werden alle in diesen Bänden abgehandelten Themen nach Sachgebieten sortiert aufgelistet. Ebenso wie die früher erschienenen Ausgaben ergänzt dies auch den vorliegenden Band 65 des Annual Review of Entomology zu einer umfassenden und wertvollen Informationsquelle entomologischer Literatur. Außerdem sind die Abstracts der Artikel des Bandes 65 online unter <http://ento.annualreviews.org> verfügbar.

Die Redaktion

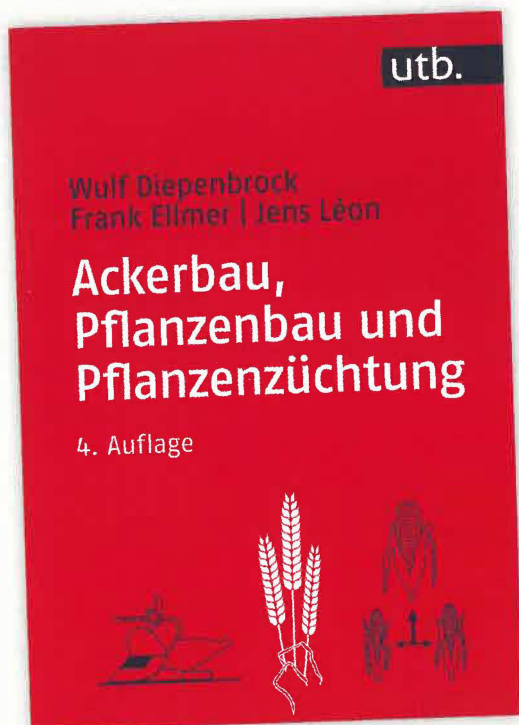
Datum/Ort	Thema	Veranstalter/Kontakt
21. – 23.04.2020 Augsburg	Deutsche Baumpflegetage	https://www.deutsche-baumpflegetage.de/ Veranstalter: Forum Baumpflege E-Mail: augsburg@deutsche-baumpflegetage.de
12.05.2020 Bonn	FAH-Informationsveranstaltung „Pyrrolizidinalkaloide: Aktueller regulatorischer Stand bei Phytopharmaka und deren Ausgangsstoffen, Analytik, toxikologische Untersuchungen sowie landwirtschaftliche Maßnahmen zur Pyrrolizidinalkaloidreduzierung“	http://fah-bonn.de/site/index.php?id=event Veranstalter: Forschungsvereinigung der Arzneimittel-Hersteller e.V. Kontakt: Stefanie Abresch E-Mail: abresch@bah-bonn.de
20.05.2020 Frankfurt	Fachinformationsdienst Biodiversitätsforschung – Workshop: Explorieren von Biodiversitätsliteratur mittels Textmining	https://www.biofid.de/de/registrierung/ Veranstalter: Senckenberg Gesellschaft für Naturforschung Kontakt: biofid@ub.uni-frankfurt.de
21. – 22.05.2020 Berlin	WCPGPB-2020 2 nd World Congress on Plant Genomics and Plant Breeding	https://conferenceera.com/plant-genomics-plant-breeding-conference/ E-Mail: plantgenetics2020@conferenceera.com
25. – 26.05.2020 Wieselburg, Österreich	75. ALVA – Jahrestagung: Landwirtschaft in der Zukunft – alles digital	https://tagung.alva.at/index.php
28. – 29.05.2020 Paris	German-French Maize Breeder School „New target traits and new tools for European maize breeding“	https://gpz-online.de/terminkalender/
10.06.2020 Dahndorf	Feldversuchstag JKI-Versuchsfeldstandort Dahndorf: 25 Jahre Dauerfeldversuche	https://www.julius-kuehn.de/veranstaltungen/ Kontakt: Jürgen Schwarz E-Mail: juergen.schwarz@julius-kuehn.de
16. – 18.06.2020 Gut Brockhof in Erwitte/Lippstadt	DLG-Feldtage – Der Treffpunkt für Pflanzenbauprofis	https://www.dlg-feldtage.de/de/home/
18. – 19.06.2020 Hohenheim	Tagung der AG 9 (Geschichte) anlässlich des 81. Geburtstages von Prof. Dr. Hartwig Geiger	https://gpz-online.de/terminkalender/
21. – 24.06.2020 Wernigerode	International Symposium on Rye Breeding & Genetics	https://meetings.ipk-gatersleben.de/eucarpia-rye-2020/ Veranstalter: IPK Kontakt: Ulrike Lohwasser E-Mail: lohwasse@ipk-gatersleben.de
17. – 24.07.2020 Helsinki	XXVI International Congress of Entomology – ICE2020	https://ice2020helsinki.fi/
31.08.2020 Göttingen	Insektenkonferenzen Pflanzen schützen – Insektenvielfalt erhalten	https://plant-protection.net/de/insekten-konferenzen/ Veranstalter: DPG, DGaE

Datum/Ort	Thema	Veranstalter/Kontakt
01. – 04.09.2020 Göttingen	62. Deutsche Pflanzenschutztagung	https://www.pflanzenschutztagung.de/ Veranstalter Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen Landwirtschaftskammer Niedersachsen, Pflanzenschutzamt Deutsche Phytomedizinische Gesellschaft E-Mail: info@pflanzenschutztagung.de
09. – 11.09.2020 Hague, Netherlands	Plant Health, Agriculture & Bioscience Conference (PHAB 2020). The Hague, the Netherlands; CABI; Koppert Biological Systems	https://phab2020.com/
28. – 29.10.2020 Braunschweig	Urbane Pflanzen Konferenzen. Wir gestalten die Stadt der Zukunft. Aus dem Garten auf den Tisch: wieviel wächst auf engem Raum?	https://plant-protection.net/de/upc/
15. – 24.01.2021 Berlin	Internationale Grüne Woche Berlin	https://www.gruenewoche.de/de/DieMesse/ Kontakt: igw@messe-berlin.de

Ackerbau, Pflanzenernährung und Pflanzenzüchtung



Änderungen und Irrtümer vorbehalten.



Basiswissen Agrarwissenschaften

Dieses Buch ist für den ersten Studienabschnitt im Bachelor-Studiengang Agrarwissenschaften konzipiert. Acker- und Pflanzenbau sowie die Pflanzenzüchtung werden in kompakter Form dargestellt.

Ackerbau, Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung.

W. Diepenbrock, F. Ellmer, J. Léon. 4., überarb. Aufl. 2016.

376 Seiten, 89 Abbildungen, 103 Tabellen, kart.

ISBN 978-3-8252-4607-5. € 27,99 [D]

Das Lehrbuch zur Einführung in das Fach Pflanzenernährung: Sie erhalten für das Modul Pflanzenernährung das didaktisch aufbereitete und anschauliche Grundlagenwissen für erfolgreiches Lernen und zur Prüfungsvorbereitung.

Themen des Buchs: Nährstoffaneignung der Pflanze, Nährstoffkreisläufe und die Grundlagen der Nährstoffverfügbarkeit im Boden, Nährstoffbilanzierung und Übersicht über Düngemittel und Beispiele von Schadelementen.

Pflanzenernährung. S. Schubert. 3., überarb. Aufl. 2017.

234 Seiten, 259 Abbildungen, 55 Tabellen, kart. ISBN 978-3-8252-4509-2.

€ 26,99 [D]



Erhältlich in Ihrer Buchhandlung oder unter www.ulmer.de | www.utb-shop.de

Inhalt Band 72, Heft 4/2020

Editorial

Pyrrrolizidinalkaloide (PA) in Arznei- und Gewürzpflanzen	FRANK MARTHE	61
---	--------------	----

Übersichtsarbeiten

Risiken von Pyrrrolizidinalkaloiden in Tee und Kräutertee	BENJAMIN SACHSE, ANJA THESE, MATTHIAS GEHLING, STEPHANIE TAUBE, CHRISTINE SOMMERFELD, OLIVER LINDTNER, BERND SCHÄFER	63
PA-Kontaminationen in Arzneipflanzen: Vorkommen, Grenzwerte und Maßnahmen	BARBARA STEINHOFF	78
Regulatorische Aspekte zu PA-Kontaminationen in Arzneipflanzen	Jacqueline Wiesner, Klaus Reh, Werner Knöss	84

Originalarbeit

NIRS basierte Detektion und Entfernung Pyrrrolizidinalkaloid- haltiger Unkräuter aus Kulturpflanzen nach der Ernte – PA-NIRSort	NANINA TRON, GEORG MAIER, HENNING SCHULTE, ANDREA KRÄHMER	88
---	---	----

Originalarbeiten – Kurzmitteilungen

Die Branche hat die „Herausforderung Pyrrrolizidinalkaloide“ in Arznei-, Gewürz- und Aromapflanzen konstruktiv angenommen	THOMAS PFEIFFER, HEIDI HEUBERGER	99
Pyrrrolizidinalkaloide in <i>Senecio vulgaris</i> L. in Abhängigkeit vom Entwicklungsstadium unter Betrachtung verschiedener Jahreszeiten	JENS FLADE, HEIDRUN BESCHOW, ANDREAS PLESCHER, WIM WÄTJEN	103
Pyrrrolizidinalkaloide – Reduzierung in Körnerfrüchten – Wunsch und Wirklichkeit	WOLFRAM JUNGHANNS, MERITA HAMMER	108

Mitteilungen und Nachrichten

Aus den Arbeitskreisen der Deutschen Phytomedizinischen Gesellschaft (DPG): 22. Treffen des Arbeitskreises Wirbeltiere der Deutschen Phytomedizinischen Gesellschaft (JENS JACOB, STEFAN ENDEPOLS)		114
--	--	-----

Termine und Veranstaltungen		118
-----------------------------	--	-----

Unser Titelbild: Bild links: Gewöhnliches Greiskraut (Gemeines Kreuzkraut, *Senecio vulgaris*,) aus der Familie Compositae (syn. Asteraceae) in Keimlingsbestand, Foto: JKI;
Bild rechts: Blüten und Fruchtstand (Achänen mit Pappus) von Gewöhnlichem Greiskraut,
Foto: Frank Marthe, JKI Quedlinburg; Für beide Fotos gilt die Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz (CC BY 4.0) (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.de>)