

DOI 10.17590/20200617-130910

## **Aktualisierte Risikobewertung zu Gehalten an 1,2-ungesättigten Pyrrolizidinalkaloiden (PA) in Lebensmitteln**

Stellungnahme 026/2020 des BfR vom 17. Juni 2020<sup>1</sup>

Das Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) befasst sich regelmäßig mit der Verunreinigung von Lebensmitteln durch 1,2-ungesättigte Pyrrolizidinalkaloide (PA). PA sind sekundäre Inhaltsstoffe, die von Pflanzen gebildet werden, um Fraßfeinde abzuwehren. In Lebensmitteln sind sie unerwünscht, da sie die Leber schädigen können und im Tierversuch erbgutverändernde (genotoxische) und krebserregende (kanzerogene) Wirkungen zeigen.

Bei der Bewertung der gesundheitlichen Risiken von Lebensmitteln, die mit Pyrrolizidinalkaloiden verunreinigt sind oder natürlicherweise enthalten, steht diese genotoxisch-kanzerogene Wirkung der 1,2 ungesättigten PA im Vordergrund. Für die genotoxisch-kanzerogene Wirkung der 1,2 ungesättigten Pyrrolizidinalkaloide kann kein sicherer Schwellenwert abgeleitet werden. Die Bewertung erfolgte daher auf Basis des Margin of Exposure (MOE) Konzeptes der Europäischen Behörde für Lebensmittelsicherheit EFSA. Die nach diesem Konzept berechneten Werte für den MOE sind jedoch keine gesundheitsbasierten Grenzwerte, sondern dienen der Priorisierung von Maßnahmen für das Risikomanagement. Ein MOE Wert von 10.000 oder höher wird mit Blick auf die öffentliche Gesundheit grundsätzlich als wenig bedenklich angesehen und stellt somit eine niedrige Priorität für Risikomanagementmaßnahmen dar.

Auf Grundlage neuer Gehaltsdaten aus den Jahren 2015 bis 2019 hat das BfR nunmehr die aktuelle Gesamtexposition von Verbraucherinnen und Verbrauchern gegenüber 1,2 ungesättigten PA über verschiedene relevante Lebensmittelgruppen (u. a. Honig, verschiedene ((Kräuter)tees, Milch, Spinat) in Deutschland abgeschätzt. Die Betrachtungen zeigen, dass sowohl die mittleren Gehalte an 1,2 ungesättigten PA als auch die Gehalte im 95. Perzentil in den letzten Jahren in den meisten Lebensmittelgruppen deutlich verringert werden konnten. Besonders ausgeprägt ist die Abnahme bei Grünem Tee, Schwarzem Tee und Pfefferminztee, aber auch bei Kamillentee, Kräutertee und Rooibostee. Dementsprechend ist auch die Aufnahme 1,2 ungesättigter PA über diese Lebensmittel in den letzten Jahren gesunken.

Die geschätzte chronische Gesamtexposition über alle in dieser Bewertung berücksichtigten Lebensmittelgruppen führt in den betrachteten Szenarien für Kinder und Erwachsene zu Aufnahmemengen, die sowohl für Normalverzehrer als auch für Vielverzehrer in MOE-Werten von über 10.000 resultieren. Gesundheitliche Beeinträchtigungen durch die derart ermittelte Gesamtexposition gegenüber 1,2 ungesättigten PA sind daher als wenig wahrscheinlich anzusehen. Bei der Interpretation dieser Ergebnisse ist aber zu beachten, dass die ermittelten MOE-Werte bei den Vielverzellern nur knapp oberhalb von 10.000 liegen.

Weiterhin muss betont werden, dass eine Exposition gegenüber 1,2-ungesättigten PA noch über weitere Lebensmittel stattfindet. Diese konnten wegen fehlender Daten zu Verzehrsmengen und/oder PA-Gehalten in die Gesamtbewertung nicht einbezogen werden. Zu den Lebensmittelgruppen, die nicht berücksichtigt werden konnten, zählen beispielsweise Kräuter/Gewürze und Nahrungsergänzungsmittel. Obwohl beispielsweise die Verzehrsmengen von Kräutern/Gewürzen gering sind, deutet die vorläufige Abschätzung darauf hin, dass diese Lebensmittelgruppe erheblich zur langfristigen wie auch zur kurzfristigen Exposition

<sup>1</sup> Ersetzt die Stellungnahme 020/18 des BfR vom 14. Juni 2018

gegenüber 1,2-ungesättigten PA beitragen könnte. Anhand von praxisrelevanten Annahmen durchgeführte Modellrechnungen zeigen, dass ein MOE von 10.000 bei erwachsenen Normalverzehrerinnen allein durch den Verzehr von Kräutern/Gewürzen mit hohen Gehalten (3.000 µg/kg) deutlich unterschritten werden könnte. Gleiches gilt für erwachsene Vielverzehrer bei Kräutern/Gewürzen mit mittleren Gehalten (1.000 µg/kg).

Vor diesem Hintergrund und der Tatsache, dass selbst geringe Aufnahmemengen erbgutverändernder und krebserregender Substanzen, insbesondere bei regelmäßigem Verzehr, mit einer Erhöhung des gesundheitlichen Risikos verbunden sein können, gilt nach wie vor die Empfehlung, die Aufnahme dieser Substanzen so weit zu minimieren, wie dies vernünftigerweise erreichbar ist (ALARA-Prinzip: „as low as reasonably achievable“). Daher empfiehlt das BfR auch weiterhin, die Bemühungen fortzusetzen, die Gehalte an 1,2-ungesättigten PA in allen Lebensmittelgruppen durch eine Verbesserung von Anbau-, Ernte- und Reinigungsmethoden zu senken. Dies gilt in besonderem Maße für Lebensmittelgruppen wie Kräuter/Gewürze. Hier wurden in untersuchten Proben teilweise sehr hohe Gehalte gemessen.

Fragen und Antworten zu PA in Lebensmitteln finden sich auf der BfR-Website:

[https://www.bfr.bund.de/de/fragen\\_und\\_antworten\\_zu\\_pyrrrolizidinalkaloiden\\_in\\_lebensmitteln-187302.html](https://www.bfr.bund.de/de/fragen_und_antworten_zu_pyrrrolizidinalkaloiden_in_lebensmitteln-187302.html)

 <b>BfR-Risikoprofil:</b> 1,2-ungesättigte Pyrrolizidinalkaloide (PA) in Lebensmitteln (Stellungnahme Nr. 026/2020)	
<b>A Betroffen sind</b>	Allgemeinbevölkerung [1] 
<b>B Wahrscheinlichkeit einer gesundheitlichen Beeinträchtigung bei regelmäßigem Verzehr von pyrrolizidinhaltenen Lebensmitteln und Nahrungsergänzungsmitteln</b>	Praktisch ausgeschlossen    Unwahrscheinlich <b>Möglich</b> Wahrscheinlich    Gesichert
<b>C Schwere der gesundheitlichen Beeinträchtigung bei regelmäßigem Verzehr von pyrrolizidinhaltenen Lebensmitteln und Nahrungsergänzungsmitteln</b>	Die schwere der Beeinträchtigung kann variieren [2]
<b>D Aussagekraft der vorliegenden Daten</b>	Hoch: Die wichtigsten Daten liegen vor und sind widerspruchsfrei    Mittel: Einige wichtige Daten fehlen oder sind widersprüchlich    Gering: Zahlreiche wichtige Daten fehlen oder sind widersprüchlich
<b>E Kontrollierbarkeit durch Verbraucher [3]</b>	Kontrolle nicht notwendig    Kontrollierbar durch Vorsichtsmaßnahmen    Kontrollierbar durch Verzicht    Nicht kontrollierbar

Dunkelblau hinterlegte Felder kennzeichnen die Eigenschaften des in dieser Stellungnahme bewerteten Risikos (nähere Angaben dazu im Text der Stellungnahme Nr. 026/2020 des BfR vom 17. Juni 2020).

**Erläuterungen**

Das Risikoprofil soll das in der BfR-Stellungnahme beschriebene Risiko visualisieren. Es ist nicht dazu gedacht, Risikovergleiche anzustellen. Das Risikoprofil sollte nur im Zusammenhang mit der Stellungnahme gelesen werden.

**[1] Zeile A**

Die beschriebenen Risiken treffen vor allem auf Vielverzehrer zu.

**[2] Zeile C**

Es ist zwischen akuten und chronischen Effekten zu unterscheiden. Die chronischen Effekte sind immer als schwerer zu bezeichnen (Krebs, nicht reversibel).

**[3] Zeile E**

Das BfR gibt in dieser Stellungnahme keine Empfehlung für Verbraucher. Diese sind in den BfR-FAQ zu PA in Lebensmitteln enthalten. Das BfR empfiehlt zur Risikominimierung Maßnahmen des Risikomanagements. Aus Sicht des BfR sollten PA-Gehalte in den relevanten Lebensmittelgruppen so gering wie möglich gehalten werden

---

BUNDESINSTITUT FÜR RISIKOBEWERTUNG (BfR)

## 1 Gegenstand der Bewertung

Das Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) hat sich in der Vergangenheit regelmäßig mit dem Vorkommen 1,2-ungesättigter Pyrrolizidinalkaloide (PA) in Lebensmitteln und den sich daraus ergebenden gesundheitlichen Risiken beschäftigt. Die hier vorgelegte aktualisierte Gesamtbewertung wurde unter Berücksichtigung neuer Gehaltsdaten für verschiedene relevante Lebensmittelgruppen erstellt. Nahrungsergänzungsmittel, Kräuter und Gewürze, Rucola sowie Mehle wurden aufgrund großer Unsicherheiten hinsichtlich der Verzehrmenen bzw. hinsichtlich der Gehaltsdaten nicht in die Schätzung der Gesamtexposition einbezogen. Für diese Lebensmittelgruppen erfolgte im Rahmen dieser Stellungnahme eine gesonderte Betrachtung. Darüber hinaus wurden neue Erkenntnisse hinsichtlich der toxischen Eigenschaften sowie zur Analytik der 1,2-ungesättigten PA berücksichtigt. Die vorliegende Stellungnahme ersetzt damit frühere Stellungnahmen des BfR zu gesundheitlichen Risiken durch Exposition gegenüber 1,2-ungesättigten PA in Lebensmitteln.

## 2 Ergebnis

Die 1,2-ungesättigten PA werden hinsichtlich ihrer genotoxisch-karzinogenen Potenz als Gruppe äquipotenter Stoffe mit additiver Wirkung angesehen. Zur Risikocharakterisierung für die Stoffgruppe wird daher der in der Europäischen Union übliche *Margin of Exposure* (MOE)-Ansatz mit einem BMDL<sub>10</sub> (*benchmark dose lower confidence limit 10 %*) von 237 µg/kg Körpergewicht (KG) und Tag als Referenzpunkt herangezogen.

Auf Grundlage neuer Gehaltsdaten aus den Jahren 2015 bis 2019 erfolgte im Rahmen dieser Stellungnahme eine aktualisierte Schätzung der Gesamtexposition gegenüber 1,2-ungesättigten PA über verschiedene relevante Lebensmittelgruppen (u. a. Honig, verschiedene ((Kräuter)tees, Milch, Spinat). Die Betrachtungen zeigen, dass sowohl die mittleren Gehalte an 1,2-ungesättigten PA als auch die Gehalte im 95. Perzentil in den letzten Jahren in den meisten Lebensmittelgruppen deutlich verringert werden konnten. Besonders ausgeprägt ist die Abnahme bei Grünem Tee, Schwarzem Tee und Pfefferminztee, aber auch bei Kamillente, Kräutertee und Rooibostee. Dementsprechend ist auch die Aufnahme 1,2-ungesättigter PA über diese Lebensmittel in den letzten Jahren gesunken.

Die Ergebnisse der Risikocharakterisierung lassen sich wie folgt zusammenfassen:

- Die genotoxisch-karzinogenen Wirkungen stehen bei der Risikobewertung der 1,2-ungesättigten PA im Vordergrund.
- Die geschätzte chronische Gesamtexposition über alle berücksichtigten Lebensmittelgruppen führt in den betrachteten Szenarien für Kinder und Erwachsene zu Aufnahmemengen, die sowohl für Normalverzehrer als auch für Vielverzehrer in MOE-Werten von über 10.000 resultieren. Gesundheitliche Risiken durch die derart ermittelte

Gesamtexposition gegenüber 1,2-ungesättigten PA sind daher als wenig wahrscheinlich anzusehen.

Bei der Interpretation dieser Ergebnisse ist aber zu beachten, dass die ermittelten MOE-Werte bei den Vielverzellern nur knapp oberhalb von 10.000 liegen.

- Zudem findet eine Exposition gegenüber 1,2-ungesättigten PA noch über weitere Lebensmittel statt, die in der hier präsentierten Schätzung der Gesamtaufnahme noch nicht berücksichtigt werden konnten.

Hierzu zählen beispielsweise Kräuter/Gewürze und Nahrungsergänzungsmittel. Die vorläufige Abschätzung für Kräuter/Gewürze deutet darauf hin, dass diese, obwohl deren Verzehrsmengen gering sind, erheblich zur langfristigen wie auch kurzfristigen Exposition gegenüber 1,2-ungesättigten PA beitragen können. So ergibt sich gemäß der anhand von praxisrelevanten Annahmen durchgeführten Modellrechnungen beispielsweise, dass ein MOE von 10.000 bei erwachsenen Normalverzellern bei alleinigem Verzehr von Kräutern/Gewürzen mit hohen Gehalten (3.000 µg/kg) und bei erwachsenen Vielverzellern bei alleinigem Verzehr von Kräutern/Gewürzen mit mittleren Gehalten (1.000 µg/kg) deutlich unterschritten werden könnte. Bei der Interpretation ist außerdem zu beachten, dass diese MOE-Werte aus der alleinigen Aufnahme 1,2-ungesättigter PA über Verzehr von Kräutern/Gewürzen resultieren, während in der Realität eine Vielzahl von Lebensmitteln zur Gesamtexposition beitragen. Besonders hohe Gehalte fanden sich in Borretsch, Oregano, Liebstöckel, Gewürzmischungen sowie in jeweils einer Probe Kreuzkümmel und Thymian. Diese Kräuter stellen somit eine relevante zusätzliche Expositionsquelle dar. Allerdings fehlen für diese Lebensmittelgruppen insbesondere belastbare Daten zu PA-Gehalten und zu den realen Verzehrsmengen einzelner Kräuter, so dass diese bislang nicht in die Schätzung der Gesamtaufnahme an 1,2-ungesättigten PA einbezogen werden konnten.

In der Europäischen Union gilt generell die Empfehlung, die Exposition gegenüber genotoxisch und kanzerogen wirkenden Substanzen so weit zu minimieren, wie dies vernünftigerweise erreichbar ist (ALARA-Prinzip: *as low as reasonably achievable*), da selbst geringe Aufnahmemengen, insbesondere bei regelmäßigem Verzehr, mit einer Erhöhung gesundheitlicher Risiken verbunden sein können.

Daher empfiehlt das BfR auch weiterhin die Bemühungen fortzusetzen, um die Gehalte an 1,2-ungesättigten PA in allen Lebensmittelgruppen durch eine Verbesserung von Anbau-, Ernte- und Reinigungsmethoden so weit wie technisch machbar zu senken. Dies gilt in besonderem Maße für Lebensmittelgruppen wie Kräuter/Gewürze, die auch gegenwärtig durch teilweise sehr hohe Gehalte auffallen.

### **3 Begründung**

#### **3.1 Risikobewertung**

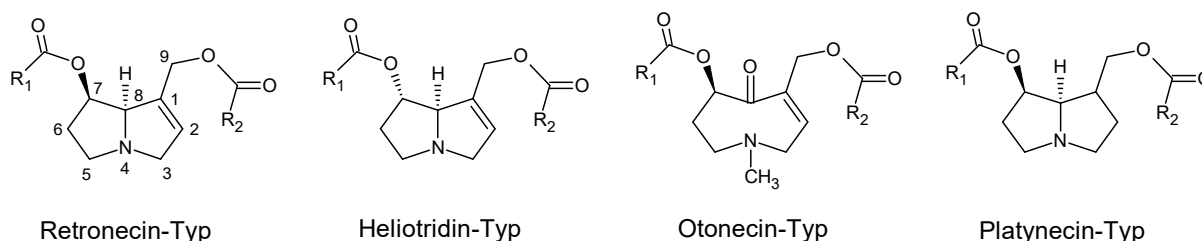
##### **3.1.1 Agens**

Bei Pyrrolizidinalkaloiden (PA) handelt es sich um eine große Gruppe von Verbindungen, die vor allem von Pflanzen, aber auch von Pilzen und Bakterien gebildet werden (Robertson & Stevens 2017). Bislang sind mehrere hundert PA und deren N-Oxide bekannt (Wiedenfeld et al. 2008). In Pflanzen wurden PA bisher in mehr als 350 Arten nachgewiesen

(Bunchorntavakul & Reddy 2013), auf Basis chemotaxonomischer Überlegungen wird allerdings mit dem Vorkommen dieser Verbindungen in über 6.000 Pflanzenspezies gerechnet (Teuscher & Lindequist 2010). Dabei findet man die Fähigkeit zur Bildung von PA in Vertretern aus mindestens 13 Pflanzenfamilien, hier insbesondere in Vertretern aus den Familien der Korbblütler (Asteraceae), der Raublatt- oder Borretschgewächse (Boraginaceae), der Hülsenfrüchtler (Fabaceae oder Leguminosae), der Hundsgiftgewächse (Apocynaceae), der Hahnenfußgewächse (Ranunculaceae) und der Braunwurzgewächse (Scrophulariaceae) (Wiedenfeld *et al.* 2008). Vermutlich werden die Verbindungen hier als sekundäre Inhaltsstoffe insbesondere zum Schutz vor Fraßfeinden gebildet. Darüber hinaus fungieren sie beispielsweise auch als Lockstoff für bestimmte Insekten (Wink 2019).

In PA-bildenden Pflanzen kommen sehr viele strukturell unterschiedliche PA vor. Insbesondere einige Vertreter aus der Familie der Boraginaceae weisen eine hohe strukturelle Vielfalt auf (These *et al.* 2013). Die genaue Zusammensetzung der PA-Profile sowie die Gehalte können aber auch in der gleichen Pflanzenspezies von weiteren Faktoren wie den Wachstumsbedingungen sowie dem Alter der Pflanze beeinflusst werden. Darüber hinaus können die Gehalte in verschiedenen Pflanzenteilen unterschiedlich sein (Allgaier & Franz 2015).

Chemisch gesehen handelt es sich bei PA um Ester, die aus einer Necinbase (1-Hydroxymethylpyrrolizidin-Grundgerüst) und Necinsäuren (aliphatische Mono- oder Dicarbonsäuren) aufgebaut sind. Die Necinbase besitzt üblicherweise eine weitere Hydroxylgruppe am C7. PA können als Monoester (Veresterung der Hydroxylgruppe am C9) oder als Diester (Veresterung der Hydroxylgruppen an C7 und C9) vorkommen. Zudem können durch Veresterung beider Hydroxylgruppen mit einer Dicarbonsäure zyklische Diester entstehen. In Abhängigkeit von der Struktur der zugrundeliegenden Necinbase werden im Wesentlichen PA vom Retronecin-, Heliotridin-, Otonecin- oder Platynecin-Typ unterschieden (Abbildung 1). Während die Necinbase bei den ersten drei Typen eine Doppelbindung in 1,2-Position aufweist, haben die PA vom Platynecin-Typ eine gesättigte Grundstruktur. Die PA vom Retronecin- und Heliotridin-Typ unterscheiden sich einzig dadurch, dass es sich bei ihnen um Diastereomere am C7 handelt (Wiedenfeld *et al.* 2008).



**Abbildung 1:** Wichtige Grundstrukturen von PA.

PA können über mehrere Wege in die Lebensmittelkette gelangen. Zum einen kann es durch PA-haltige Wildkräuter bei der Ernte zu einer Kontamination eigentlich PA-freier pflanzlicher Lebensmittel kommen. Zum anderen bilden einige als Lebensmittel genutzte Pflanzen auch selbst PA. Hier wäre Borretsch als ein Beispiel zu benennen. Zudem können Nahrungsergänzungsmittel (NEM) auf Basis PA-bildender Pflanzen bzw. Pflanzenteile hergestellt sein. Prinzipiell ist außerdem ein Übergang aus belasteten Futtermitteln in tierische Lebensmittel (Fleisch, Milch und Eier) möglich (Mulder *et al.* 2016; de Nijs *et al.* 2017).

Grundsätzlich werden den 1,2-ungesättigten PA, die mit mindestens einer verzweigten C<sub>5</sub>-Carbonsäure verestert sind, hepatotoxische, kanzerogene und mutagene Wirkungen zugeschrieben (BfArM 1992; Roeder 1992). Zu diesen Verbindungen zählen die PA des Retronecin-, Heliotridin- und Otonecin-Typs, nicht jedoch die PA des Platynecin-Typs (Abbildung 1). In der vorliegenden Stellungnahme werden daher nur die 1,2-ungesättigten PA betrachtet.

### 3.1.2 Bewertungen nationaler und internationaler Gremien

Die möglichen gesundheitlichen Risiken durch 1,2-ungesättigte PA wurden in den vergangenen Jahren durch verschiedene wissenschaftliche Gremien bewertet. Die Bewertungsansätze und Schlussfolgerungen haben sich dabei im Laufe der Zeit verändert. Die wesentlichen Eckpunkte früherer Bewertungen sollen im Folgenden kurz dargestellt werden.

Bereits im Jahr 1988 stellte ein Expertengremium des *International Programme on Chemical Safety* (IPCS) der Weltgesundheitsorganisation (WHO) fest, dass verschiedene 1,2-ungesättigte PA ein toxisches Potenzial besitzen, wobei nicht die Muttersubstanzen selbst, sondern reaktive Pyrrol-Metaboliten für die toxischen Wirkungen verantwortlich gemacht wurden. Nach kurz- und mittelfristiger Aufnahme hoher Dosen steht die ausgeprägte leberschädigende Wirkung im Vordergrund. Die Toxizität der Verbindungen weist zudem aber einen kumulativen Charakter auf, weshalb auch die chronische Exposition gegenüber niedrigen Dosen ein gesundheitliches Risiko darstellen könne. Als wesentliche Langzeit-Effekte beim Menschen wurden die Induktion von Leberzirrhose sowie eine mögliche kanzerogene Wirkung angesehen. Es lagen aber keine belastbaren epidemiologischen Untersuchungen vor, die verlässlich Aufschluss über das kanzerogene Potenzial beim Menschen hätten geben können. Auf Grundlage eines Fallberichts von Ridker *et al.* (Ridker *et al.* 1985), in dem das Auftreten einer Lebererkrankung nach Aufnahme 1,2-ungesättigter PA über Beinwellblätter beschrieben wurde, schloss das Expertengremium, dass eine mittelfristige tägliche Aufnahme von 15 µg/kg Körpergewicht (KG) (Hauptalkaloid: Echimidin) bereits zu Leberschäden beim Menschen führen könne. Da die 1,2-ungesättigten PA aus Beinwell in tierexperimentellen Studien zur akuten Toxizität schwächer wirkten, wurde aus dem Verhältnis der LD<sub>50</sub>-Werte nach intraperitonealer Applikation ein Dosis-Äquivalent von 10 µg Heliotrin/kg KG ermittelt, von dem ebenfalls angenommen wurde, dass es bereits zu Erkrankungen beim Menschen führen dürfte (IPCS/INCHEM 1988). Es ist aber anzumerken, dass die genannte Fallbeschreibung von Ridker *et al.* hinsichtlich der Dosis-Wirkungs-Beziehung große Unsicherheiten aufweist.

Auch die *International Agency for Research on Cancer* (IARC) der WHO hat verschiedene 1,2-ungesättigte PA bewertet. Einige der Verbindungen wurden als „possibly carcinogenic to humans“ eingestuft – für andere Vertreter war eine derartige Klassifizierung aufgrund fehlender Daten nicht möglich (IARC 1983, 1987, 2002).

Für Arzneimittel wurden in Deutschland im Jahr 1992 im Rahmen eines Stufenplanverfahrens Höchstgehalte für das Vorkommen 1,2-ungesättigter PA einschließlich deren N-Oxide festgesetzt. Bei Arzneimitteln mit anerkannten Anwendungsgebieten gemäß Monographien nach § 25 Abs. 7 Arzneimittelgesetz (AMG) darf danach die tägliche Exposition bei maximaler Dosierung folgende Aufnahmemengen an 1,2-ungesättigten PA nicht übersteigen: 100 µg/Person bei externer Anwendung, 1 µg/Person bei innerer Anwendung, 10 µg/Person bei der Anwendung von Huflattichblättern als Teeaufguss. Bei diesen Arzneimitteln ist außerdem die Anwendungsdauer auf maximal 6 Wochen pro Jahr zu begrenzen. Zudem soll bei innerer

Anwendung keine Anwendung in der Schwangerschaft und der Stillzeit erfolgen. Von diesen Anwendungsbeschränkungen ausgenommen sind – neben bestimmten homöopathischen Arzneimitteln – Arzneimittel, wenn bei deren maximaler Dosierung eine tägliche Exposition gegenüber 1,2-ungesättigten PA in Höhe von 0,1 µg/Person bei innerer Anwendung und 10 µg/Person bei externer Anwendung nicht überschritten wird (BfArM 1992).

Im Jahr 2001 gelangte die Behörde für Lebensmittelsicherheit in Australien und Neuseeland (ANZFA, *Australia New Zealand Food Authority* (heute: FSANZ, *Food Standards Australia New Zealand*) in ihrer Bewertung von 1,2-ungesättigten PA in Lebensmitteln zu dem Schluss, dass keine belastbaren epidemiologischen Daten vorliegen, die auf ein krebserzeugendes Potenzial der Verbindungen beim Menschen hinweisen. Als wesentlicher toxikologischer Endpunkt für den Menschen wurde das PA-induzierte Auftreten von veno-okklusiven Lebererkrankungen angesehen. Auf Basis der Daten aus der Fallbeschreibung von Ridker *et al.* (Ridker *et al.* 1985) leitete die ANZFA – im Gegensatz zu der Bewertung der WHO aus dem Jahr 1988 – einen „tentative no-observed-effect-level“ für alle PA von 10 µg/kg KG und Tag für die nicht-kanzerogenen Effekte ab. Bei Anwendung eines Unsicherheitsfaktors von 10 zur Berücksichtigung von Intraspeziesunterschieden hinsichtlich der Suszeptibilität wurde ein PTDI (*provisional tolerable daily intake*) von 1 µg/kg KG und Tag vorgeschlagen (ANZFA 2001).

In einer „Stellungnahme zu Pyrrolizidinalkaloiden in Honigen, Imkereierzeugnissen und Pollenprodukten“ gelangte die Senatskommission zur Beurteilung der gesundheitlichen Unbedenklichkeit von Lebensmitteln (SKLM) der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) im Jahr 2002 zu dem Schluss: „*Die Datenlage zu Gehalten von PA in Honigen, die aus PA-haltigen Pflanzen gewonnen wurden (z. B. Kreuzkraut- bzw. Natternkopf-Honig) sowie die Datenlage zur Exposition des Verbrauchers mit PA sind als unzureichend zu beurteilen. Auch die Datenbasis zur Toxikologie solcher PA und zum Metabolismus beim Menschen ist noch lückenhaft, so dass zurzeit keine abschließende Risikobewertung vorgenommen werden kann.*“ Die SKLM empfahl, „*zunächst besonderes Augenmerk auf Produkte zu richten, die unter Verwendung von Pollen aus PA-haltigen Pflanzen hergestellt werden. Diese Produkte gelangen als Nahrungsergänzungsmittel in den Handel und werden vermutlich in größeren Mengen verzehrt*“. Zudem empfahl das Gremium, die analytische Erfassung 1,2-ungesättigter PA in Honig und Pollen zu verbessern (DFG 2002).

Im Jahr 2005 hat das *Dutch National Institute for Public Health and the Environment* (RIVM) ebenfalls die Risiken durch 1,2-ungesättigte PA bewertet. Dabei hat es tierexperimentelle Untersuchungen einbezogen. Auf Basis des NOAEL (*no observed adverse effect level*) von 10 µg/kg KG und Tag für nicht-kanzerogene Veränderungen aus einer chronischen Rattenstudie mit Riddelliin (NTP 2003) und unter Berücksichtigung eines Unsicherheitsfaktors von 100 wurde ein TDI (*tolerable daily intake*) von 0,1 µg/kg KG und Tag abgeleitet. Bezüglich der möglichen kanzerogenen Wirkung der 1,2-ungesättigten PA hat das RIVM aus derselben Studie eine sog. „*Virtually Safe Dose (VSD)*“ von 0,00043 µg/kg KG und Tag abgeleitet. Dieser Wert gibt die Dosis an, die bei linearer Extrapolation auf Basis von tierexperimentellen Daten noch mit einem erhöhten Krebs-Risiko von eins zu einer Million assoziiert ist (RIVM 2014).

Das BfR hatte in einer ersten Risikobewertung von 1,2-ungesättigten PA in Lebensmitteln im Jahr 2007 den mit dem Arzneimittelbereich abgestimmten Bewertungsansatz verfolgt, der im Zusammenhang mit dem o. g. Stufenplanverfahren für PA-haltige Arzneimittel im Jahr 1992 etabliert worden war. Dabei war – wie für bestimmte Arzneimittel – auch im Lebensmittelbereich gefordert worden, dass eine maximale Tageszufuhr von 0,1 µg an 1,2-ungesättigten PA pro Person möglichst nicht überschritten werden sollte (BfR 2007).

Ebenfalls im Jahr 2007 hat die Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA) im Rahmen einer Stellungnahme zur Bewertung von PA als unerwünschte Substanzen in Futtermitteln Kenntnislücken bezüglich der Exposition aufgezeigt und darauf hingewiesen, dass insbesondere das Vorkommen 1,2-ungesättigter PA in Honig besondere Beachtung verdient. Darüber hinaus wurde mit Blick auf die Risiken für den Menschen das PA-induzierte Auftreten von veno-okklusiven Erkrankungen als sensitivster Endpunkt angesehen (EFSA 2007).

Im Jahr 2008 wurden die sich aus der Exposition gegenüber 1,2-ungesättigten PA ergebenden Risiken durch das englische *Committee on Toxicity of Chemicals in Food, Consumer Products and Environment* (COT) bewertet. Die Fallbeschreibung von Ridker *et al.* (Ridker *et al.* 1985) wurde für die Beurteilung der nicht-karzinogenen Wirkungen als ungeeignet befunden. Stattdessen wurde auf Grundlage der Daten aus einer chronischen Ratten-Studie mit Riddelliin (NTP 2003) ein NOAEL von 10 µg/kg KG und Tag identifiziert und unter Anwendung eines Unsicherheitsfaktors von 100 gefolgert, dass unterhalb einer Aufnahmemenge von 0,1 µg Riddelliin/kg KG und Tag das Auftreten nicht-karzinogener Effekte nicht zu erwarten sei. Das COT sah die 1,2-ungesättigten PA zudem als genotoxische Karzinogene mit kumulativer Wirkung an. Für die Berechnung des *Margin of Exposure* (MOE) wurde ein auf Grundlage der Daten aus der chronischen Rattenstudie mit Lasiocarpin (NCI 1978) abgeleiteter BMDL<sub>10</sub> (*benchmark dose lower confidence limit 10 %*) von 73 µg/kg KG und Tag als Referenzpunkt zugrunde gelegt. Auf Basis der Richtlinien der Europäischen Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA) (EFSA 2005) gelangte das COT zu dem Schluss: „*MOEs of 10.000 and above, corresponding to doses of up to 0.007 µg/kg body weight/day, would be unlikely to be of concern.*“ (COT 2008).

Im Jahr 2011 veröffentlichte das BfR eine Stellungnahme zu gesundheitlichen Risiken durch 1,2-ungesättigte PA aus Honig. Als sensitivster Endpunkt wurde das vermehrte Auftreten von Hämangiosarkomen bei Ratten identifiziert. Diese wurden sowohl in einer Langzeitstudie mit Lasiocarpin (NCI 1978) als auch in einer Langzeitstudie mit Riddelliin (NTP 2003) beobachtet. Folglich wurde für die Bewertung möglicher Risiken auf den inzwischen in der Europäischen Union für genotoxisch-karzinogen wirkende Verbindungen üblichen MOE-Ansatz zurückgegriffen. Dabei wurden die Daten zu Hämangiosarkomen beider Karzinogenitätsstudien einer Dosis-Wirkungs-Modellierung gemäß den Empfehlungen des EFSA-Leitfadens „*Use of the benchmark dose approach in risk assessment*“ aus dem Jahr 2009 (EFSA 2009) unterzogen. In Übereinstimmung mit der Bewertung des COT wurde ein BMDL<sub>10</sub> von 73 µg/kg KG und Tag abgeleitet. Danach ergeben sich Werte für den MOE von mindestens 10.000 sofern eine Tageszufuhr von 0,007 µg an 1,2-ungesättigten PA/kg KG und Tag nicht überschritten wird. Für die Risikobetrachtung wurden ferner die Gehaltsdaten sämtlicher erfasster 1,2-ungesättigter PA als Summe betrachtet und es wurde von einer Äquipotenz der einzelnen 1,2-ungesättigten PA hinsichtlich der karzinogenen Wirkung ausgegangen. Zur Beurteilung gesundheitlicher Effekte nach kurzfristiger Aufnahme wurde basierend auf zwei Fallberichten am Menschen (Stillman *et al.* 1977; Fox *et al.* 1978; Huxtable 1980) hilfsweise ein Dosisbereich identifiziert, der nach kurzfristiger Aufnahme mit ausgeprägten gesundheitsschädlichen Effekten assoziiert war. Derartige Dosen liegen im Bereich von etwa 1-3 mg/kg KG und Tag (BfR 2013b).

Ebenfalls im Jahr 2011 wurde von der EFSA eine Stellungnahme zur Risikobewertung von PA in Lebens- und Futtermitteln veröffentlicht. Im Rahmen dieser Bewertung erfolgte eine ausführliche Charakterisierung des Gefährdungspotenzials der 1,2-ungesättigten PA. Die EFSA schlussfolgerte, dass es sich bei 1,2-ungesättigten PA um genotoxische Karzinogene handle. Als sensitivster Endpunkt wurde von der EFSA das vermehrte Auftreten von Hämangiosarkomen bei Ratten identifiziert. Auch die EFSA stützte sich in ihrer Bewertung auf den



MOE-Ansatz und leitete einen BMDL<sub>10</sub> von 70 µg/kg KG und Tag als Referenzpunkt ab. Dabei wurden von der EFSA die Gehaltsdaten sämtlicher erfasster 1,2-ungesättigter PA als Summe betrachtet und es wurde von einer Äquipotenz hinsichtlich kanzerogener Effekte ausgegangen. Auf Grundlage von MOE-Werten unterhalb von 10.000 schlussfolgerte die EFSA, dass bei Kleinkindern und Kindern mit einem hohen Honigverzehr gesundheitliche Risiken hinsichtlich kanzerogener Effekte möglich seien. Eine Bewertung weiterer Lebensmittelgruppen war nicht möglich, da zu diesem Zeitpunkt keine belastbaren Gehaltsdaten vorlagen. Neben der Bewertung möglicher Risiken durch die chronische Aufnahme 1,2-ungesättigter PA wurden auch im Rahmen der EFSA-Stellungnahme mögliche akut-toxische Wirkungen betrachtet. Dabei wurde basierend auf den bereits beschriebenen zwei Fallberichten am Menschen (Stillman *et al.* 1977; Fox *et al.* 1978; Huxtable 1980) PA-Dosen identifiziert, die bereits nach kurzfristiger Aufnahme mit ausgeprägten gesundheitsschädlichen Effekten assoziiert waren. Derartige Dosen liegen im Bereich von etwa 1-3 mg/kg KG und Tag (EFSA 2011).

In einer weiteren Stellungnahme aus dem Jahr 2013 bewertete das BfR gesundheitliche Risiken durch 1,2-ungesättigte PA in Kräutertees und Tees. Das BfR gelangte darin zu dem Schluss, dass die MOE-Werte für Personen, die häufig große Mengen von Kräutertee und Tee verzehren, deutlich unterhalb von 10.000 liegen (BfR 2013a).

Für den Arzneimittelbereich veröffentlichte das *Committee on Herbal Medicinal Products* (HMPC) der Europäischen Arzneimittel-Agentur (EMA, *European Medicines Agency*) im Jahr 2014 die Stellungnahme „Public statement on the use of herbal medicinal products containing toxic, unsaturated pyrrolizidine alkaloids (PAs)“. Für oral einzunehmende Arzneimittel gelangte das HMPC zu folgendem Schluss: *“... Risk assessment by various scientific organisation [...] deduced a permitted daily intake of 0.007 µg PA/kg body weight. Assuming a 50 kg person this would mean a daily intake of 0.35 µg per day (from all sources: food and herbal medicinal products) for adults. The potential daily intake of toxic, unsaturated PAs via food cannot be ignored especially as consumers/patients are not able to avoid them. On the basis of the available kinetic data, it seems clear that ingested PAs will be absorbed and metabolised. The HMPC concluded that the short-time (maximum 14 days) daily intake of 0.35 µg toxic, unsaturated PAs/day from herbal medicinal products might be acceptable. ...”* (EMA 2014).

Im Juni 2015 wurden die 1,2-ungesättigten PA erstmalig vom *Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives* (JECFA) bewertet. Bislang wurde lediglich eine kurze Zusammenfassung der vorläufigen Ergebnisse der Bewertung publiziert. Als wesentliche Grundlage der Bewertung wurde die im Rahmen des NTP-Programms durchgeführte chronische Ratten-Studie mit Riddelliin (NTP 2003) berücksichtigt. Auf dieser Basis wurde das Auftreten von Hämangiosarkomen in der Leber bei weiblichen Ratten als sensitivster Endpunkt identifiziert und ein BMDL<sub>10</sub> von 182 µg/kg KG und Tag abgeleitet und für MOE-Berechnungen genutzt. Basierend auf dem Verzehr von Honig und Tee wurde die Exposition für Kinder und Erwachsene geschätzt und folgender Schluss gezogen: *“...The calculated MOEs for high adult consumers of tea and honey and for average tea consumption by children indicated a concern...”* (JECFA 2015).

Eine umfassende Stellungnahme zu 1,2-ungesättigten PA in verschiedenen Lebensmitteln wurde durch das BfR im Jahr 2016 veröffentlicht. Dabei wurde ein BMDL<sub>10</sub> von 73 µg/kg KG und Tag als Referenzpunkt für die Berechnung von MOE-Werten herangezogen. Auf Grundlage neuer Daten zu Gehalten an 1,2-ungesättigten PA konnten in dieser Stellungnahme auch weitere Lebensmittelgruppen für die Risikobetrachtung berücksichtigt werden. Einen bedeutenden Anteil an der Gesamtaufnahme an 1,2-ungesättigten PA hatten bei Kindern

insbesondere Kräutertee, Schwarztee und Honig. Bei Erwachsenen trugen insbesondere Kräutertee und Schwarztee zur Aufnahme an 1,2-ungesättigten PA bei. Daneben wurden NEM, hier insbesondere solche NEM, die auf Basis PA-bildender Pflanzen hergestellt werden, als eine wichtige Expositionsquelle identifiziert. Auf Basis von MOE-Werten deutlich unterhalb von 10.000, sowohl bei Kindern als auch bei Erwachsenen, wurde in dieser Stellungnahme auf ein mögliches Risiko hinsichtlich kanzerogener Wirkungen bei hohem Verzehr von Lebensmitteln mit hohen PA-Gehalten hingewiesen. Zur Beurteilung möglicher akut-toxischer Wirkungen bei bestimmten NEM mit hohen Gehalten an 1,2-ungesättigten PA wurden hilfsweise Fallberichte und tierexperimentelle Befunde zu nicht-kanzerogenen (nicht-neoplastischen) Effekten herangezogen. Weiterhin hatte das BfR auf Grundlage eines NOAEL von 10 µg/kg KG und Tag für das Auftreten nicht-kanzerogener Leberschädigungen in einer Ratten-Studie und Anwendung eines geeigneten Extrapolationsfaktors von 100 hilfsweise einen gesundheitsbasierten Richtwert (HBGV) von 0,1 µg PA/kg KG und Tag als Orientierungswert für die Beurteilung des Risikos für nicht-kanzerogene Schädigungen abgeleitet. Sowohl für Kinder als auch für Erwachsene war bei Betrachtung von Vielverzehrern hoch belasteter Produkte eine Überschreitung dieses Orientierungswerts zu verzeichnen (BfR 2016b).

Nachdem von der EFSA im Jahr 2016 bereits neue Daten zu Gehalten an 1,2-ungesättigten PA sowie zur Exposition gegenüber 1,2-ungesättigten PA aus mehreren Lebensmittelgruppen veröffentlicht wurden, wurde die Risikobewertung von 1,2-ungesättigten PA in Lebensmitteln durch die EFSA im Jahr 2017 aktualisiert. Dabei wurden neben Honig auch Tee, Kräutertee und NEM berücksichtigt. Eine umfassende Aktualisierung der Charakterisierung des Gefährdungspotenzials von 1,2-ungesättigten PA erschien aus Sicht der EFSA nicht erforderlich. Aufgrund der im Frühjahr 2017 veröffentlichten Aktualisierung des EFSA-Leitfadens zur BMD-Modellierung („Update: use of the benchmark dose approach in risk assessment“) (EFSA 2017a) wurde aber eine erneute Modellierung der Dosis-Wirkungs-Daten unter Beachtung der aktuellen Empfehlungen als erforderlich angesehen (EFSA 2017b). Unter Berücksichtigung des neuen Leitfadens führte die EFSA im Rahmen einer Neubewertung eine erneute Modellierung der Befunde aus den bereits früher berücksichtigten Studien mit Lasiocarpin und Riddelliin durch. Dabei wurde das Auftreten von Hämangiosarkomen weiterhin als sensitivster Endpunkt bestätigt. Die EFSA gelangte aber zu dem Schluss, dass die Daten aus der Riddelliin-Studie gemäß den neuen Empfehlungen zur BMD-Modellierung eine verlässlichere Grundlage für die Modellierung der Dosis-Wirkungs-Beziehung darstellen. Es wurde ein neuer BMDL<sub>10</sub> von 237 µg/kg KG und Tag abgeleitet. Die Unterschiede gegenüber dem früheren BMDL<sub>10</sub> von 70 µg/kg KG und Tag resultieren vermutlich primär aus der eingeschränkten Qualität der verfügbaren Daten. Beispielsweise war in der Lasiocarpin-Studie eine ausgeprägte frühe substanzbedingte Mortalität zu verzeichnen, die vermutlich einen deutlichen Einfluss auf die Dosis-Wirkungs-Beziehung hat (EFSA 2017b). Trotz des im Vergleich mit den älteren Stellungnahmen höheren Referenzpunktes von 273 µg/kg KG und Tag zu vormals 70 µg/kg Kg und Tag errechneten sich auch im Rahmen dieser Stellungnahme für Vielverzehrer hochbelasteter Produkte MOE-Werte deutlich unterhalb von 10.000. Ein Risiko hinsichtlich kanzerogener Wirkungen erschien der EFSA daher unter bestimmten Verzehrbedingungen als möglich. Zudem wurden in dieser Stellungnahme bestimmte NEM als eine relevante Expositionsquelle angesehen und es wurde gefolgert, dass selbst das Auftreten akut-toxischer Wirkungen durch Verzehr bestimmter NEM, die auf PA-bildenden Pflanzen basieren, möglich sei (EFSA 2017b).

Das BfR veröffentlichte im Jahr 2018 eine aktualisierte Risikobewertung zu 1,2-ungesättigten PA in Lebensmitteln. Im Ergebnis wurde unter Berücksichtigung des neuen BMDL<sub>10</sub> von 237 µg/kg KG und Tag festgestellt, dass durch den Verzehr bestimmter Lebensmittel eine Exposition erreicht werden kann, aus der MOE-Werte deutlich unterhalb von 10.000 resultieren.

Ein Risiko hinsichtlich kanzerogener Effekte durch die Aufnahme PA-belasteter Lebensmittel wurde daher als möglich angesehen (BfR 2018).

2019 erfolgte eine Bewertung 1,2-ungesättigter PA in Lebensmitteln mit einem Fokus auf Gewürzkräuter. Aufgrund der sehr eingeschränkten Datenlage sowohl zum kurz- als auch zum langfristigen Verzehr verschiedener Kräuter war eine abschließende Risikobewertung nicht möglich. Das BfR gelangte aber auf Grundlage verschiedener Modellrechnungen zu dem Schluss, dass – obwohl die absoluten Verzehrsmengen vermutlich gering sind – Gewürzkräuter erheblich zur längerfristigen wie auch zur kurzfristigen Exposition gegenüber 1,2-ungesättigten PA beitragen können (BfR 2019).

### 3.1.3 Gefährdungspotenzial

#### 3.1.3.1 Toxische Eigenschaften 1,2-ungesättigter PA

Primäres Zielorgan für die toxischen Wirkungen ist die Leber. Daneben können aber auch weitere Organe – insbesondere die Lunge – von PA-induzierten Schädigungen betroffen sein. Ursächlich für den Organotropismus ist vermutlich die primär in der Leber ablaufende Umwandlung der 1,2-ungesättigten PA in die reaktiven Metaboliten (Pyrrol-Ester).

Die Bildung der reaktiven Pyrrol-Metaboliten wird als primäre Ursache sowohl für die nicht-kanzerogene Schädigung der sinusoidalen Endothelien in der Leber als auch für die genotoxisch-kanzerogenen Wirkungen angesehen (Fu *et al.* 2004; Wiedenfeld *et al.* 2008; Allgaier & 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. Bei höheren Dosen wurden im Tierversuch mit 1,2-ungesättigten PA außerdem reproduktionstoxische Effekte beobachtet (Fu *et al.* 2004; Chen *et al.* 2010; Edgar *et al.* 2014; Allgaier & Franz 2015).

##### 3.1.3.1.1 Nicht-kanzerogene Wirkungen 1,2-ungesättigter PA

Bei Nutztieren treten immer wieder schwere Vergiftungen auf, nachdem die Tiere PA-haltige Wildkräuter gefressen haben (Fu *et al.* 2017; Panziera *et al.* 2018). Beispielsweise wurde bei Schlachtrindern, die Alpenkreuzkraut über Heu und Silage aufgenommen haben, das Auftreten von Leberzirrhosen beobachtet. Auch bei Pferden führt die Aufnahme von PA-haltigen *Senecio*-Arten beim Weiden bekanntermaßen zu Seneciosen, die durch leberdegenerative Wirkungen gekennzeichnet sind. Derartige vergiftungsbedingte Erkrankungen bei Nutztieren sind auch unter den Namen „Walking disease“ (USA), „Dunziekte“ (Südafrika), „Winton disease“ (Neuseeland) oder „Schweinsberger Krankheit“ (Deutschland) bekannt (Petzinger 2011b, a).

Insbesondere bei Nutztieren und Nagern wurde nach chronischer Exposition außerdem das Auftreten vergrößerter 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 *et al.* 2017). In der im Kapitel 3.1.3.1.2 ausführlicher beschriebenen chronischen Toxizitätsstudie mit Riddelliin an Ratten war die erhöhte Inzidenz von Hepatozytomegalie zudem der sensitivste nicht-kanzerogene Effekt. Dieser wurde ab einer Dosis von 33 µg/kg KG und Behandlungstag beobachtet (NTP 2003).

Auch beim Menschen werden nach Aufnahme hoher Dosen 1,2-ungesättigter PA immer wieder schwere, zum Teil tödlich verlaufende, Intoxikationen beobachtet. In den letzten Jahrzehnten sind beispielsweise in Afghanistan, das auch im Jahr 2010 wieder betroffen war, mehrere tausend Fälle endemisch auftretender Vergiftungen dokumentiert worden. Ursächlich für die Vergiftungsfälle war der Verzehr von Getreide, das mit Pflanzenteilen von PA-bildenden *Heliotropium*-Arten kontaminiert war (Molyneux *et al.* 1991; Kakar *et al.* 2010). In Asien werden Intoxikationen zudem mit dem Konsum bestimmter Kräuter in Verbindung gebracht, die im Rahmen der traditionellen chinesischen Medizin eingesetzt werden und entweder selbst 1,2-ungesättigte PA enthalten oder aber mit PA-haltigen Wildkräutern verwechselt werden oder mit diesen kontaminiert sind (Dai *et al.* 2007; Ma *et al.* 2018; Zhuge *et al.* 2019).

Die nicht-karzinogenen Wirkungen 1,2-ungesättigter PA manifestieren sich beim Menschen insbesondere an der Leber in Form veno-okklusiver Veränderungen (HSOS, *hepatic sinusoidal obstruction syndrom*; synonym: HVOD, *hepatic veno-occlusive disease*). Dabei kommt es – vermutlich durch die reaktiven Metaboliten vermittelt – zu einer Schädigung der sinusoidalen Endothelzellen, die in der Folge u. a. anschwellen oder sich ablösen können. Dies führt wiederum zur charakteristischen Veränderung und Verlegung sinusoidaler Gefäße. Nach (sub)akuter Aufnahme höherer Mengen an 1,2-ungesättigten PA können klinisch bspw. starke Bauchschmerzen, Schmerzen in der Leberregion, Anorexie, Fatigue, Aszites, Gelbsucht und Hepatomegalie auftreten (Allgaier & Franz 2015; Yang *et al.* 2019b; Zhuge *et al.* 2019). Derartige Symptome können sowohl bei kurzfristiger Aufnahme sehr hoher Dosen als auch nach mittelfristiger Exposition gegenüber mittlerer Dosen auftreten (BfR 2013a). Während schwere Vergiftungen häufig letal verlaufen, ist bei leichteren Vergiftungen eine vollständige Remission möglich (Allgaier & Franz 2015; Zhuge *et al.* 2019).

Neben den Wirkungen auf die Leber kann es durch (einige) 1,2-ungesättigte PA bzw. deren Metaboliten auch zu einer Schädigung pulmonaler Endothelzellen kommen. 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 & Franz 2015).

Die aus den Fallbeschreibungen von Vergiftungen beim Menschen vorliegenden Informationen lassen nur in begrenztem Maß Rückschlüsse auf die Dosis-Wirkungs-Beziehung der nicht-karzinogenen Schädigungen beim Menschen zu:

(a) *Toxische Wirkungen nach kurzfristiger Aufnahme hoher Dosen*

In der Literatur finden sich zwei relativ gut dokumentierte Fallberichte, in denen Vergiftungen nach vier- bzw. 14-tägiger Exposition beschrieben sind. Im einen Fall war dabei ein sechs Monate altes Mädchen (Körpergewicht: 6 kg), im anderen Fall ein zwei Monate alter Junge (Körpergewicht: unbekannt) betroffen. Beide Säuglinge erhielten Kräutertee, der aus *Senecio longilobus* zubereitet wurde (Stillman *et al.* 1977; Fox *et al.* 1978; Huxtable 1980). Klinisch litt das Mädchen zunächst unter Aszites und Pleuraerguss; nach zwei Monaten zeigte sich eine sinusoidale Leberfibrose und sechs Monate später eine Leberzirrhose. Der Junge litt an Hämatemesis, entwickelte eine Gelbsucht mit ausgeprägter Hepatomegalie, wies zentralnervöse Krämpfe, Bradykardie und Apnoeperioden auf. Er verstarb nach sechs Tagen.

Im Fall des Mädchens enthielt der Kräutertee bezogen auf das Trockengewicht einen Gehalt an 1,2-ungesättigten PA in Höhe von 0,3 % an freien Alkaloiden (hauptsächlich Riddelliin) und zudem 1 % N-Oxide (hauptsächlich von Retrorsin, zu geringeren Anteilen von Seneciphyllin und Senecionin). Im Fall des Jungen wies der Tee einen Gehalt von 0,5 % an freien Alkaloiden und 1 % N-Oxiden auf. Anhand der Gehaltsdaten und

den Darreichungsschematas wurde geschätzt, dass das Mädchen über eine zweiwöchige Periode insgesamt zwischen 70 und 147 mg (entsprechend 12-25 mg/kg Körpergewicht) an 1,2-ungesättigten PA aufgenommen hat. Für den Jungen (angenommenes Körpergewicht: 5,5 kg) wurde eine Gesamtaufnahme von insgesamt etwa 66 mg an 1,2-ungesättigten PA über einen Zeitraum von vier Tagen (entsprechend 17 mg/kg Körpergewicht) geschätzt.

Demzufolge ergeben sich als geschätzte Tagesdosen bei dem Mädchen 0,8-1,7 mg/kg KG und bei dem Jungen 3 mg/kg KG für ein Gemisch aus verschiedenen 1,2-ungesättigten PA mit Riddelliin und Retrorsin-*N*-Oxid als Hauptbestandteile. In beiden Fällen haben die aufgenommenen Gesamtdosen zu schweren gesundheitlichen Beeinträchtigungen der Patienten geführt.

(b) *Toxische Wirkungen nach mittel- bis längerfristiger Exposition*

In der Literatur wird ein Vergiftungsfall mit der klinischen Symptomatik des HSOS beschrieben, der nach viermonatiger Einnahme einer Zubereitung aus „Comfrey“-Blättern aufgetreten ist (keine Angabe der *Symphytum*-Spezies). Die Blätter enthielten bis zu 0,27 g Alkaloid/kg. Zusätzlich war über einen längeren Zeitraum ein Kräutertee konsumiert worden, der ebenfalls 1,2-ungesättigte PA enthielt. Die Autoren schätzten, dass über einen Zeitraum von sechs Monaten täglich eine Dosis von 15 µg Alkaloid/kg KG aufgenommen wurde (Hauptalkaloid: Echimidin). Aufgrund der Exposition über mehrere Quellen ist die Schätzung aber mit deutlichen Unsicherheiten behaftet (Ridker *et al.* 1985; IPCS/INCHEM 1988; COT 2008).

Das Auftreten von HSOS, in einem Fall tödlich verlaufend, wurde auch bei vier chinesischen Frauen diagnostiziert, die über einen Zeitraum von 19 bis 46 Tagen einen Kräutertee auf Basis von *Heliotropium lasiocarpum* konsumiert hatten. Schätzungen zufolge wurden dabei über 45, 46, 19 bzw. 21 Tage täglich etwa 0,59, 0,49 (tödlicher Verlauf), 0,60 bzw. 0,71 mg an 1,2-ungesättigten PA (Heliotrin)/kg KG aufgenommen (Kumana *et al.* 1983, 1985; Culvenor *et al.* 1986; IPCS/INCHEM 1988).

Bei zwei in Indien aufgetretenen Fällen, bei denen nach 20- bis 50-tägiger Einnahme von *Heliotropium eichwaldii* zu medizinischen Zwecken eine HSOS aufgetreten war, wurde eine Exposition von 3,3 mg an 1,2-ungesättigten PA (Heliotrin)/kg KG und Tag geschätzt (Datta *et al.* 1978; IPCS/INCHEM 1988).

Im Rahmen von gehäuft auftretenden Fällen von HSOS in Afghanistan und Indien nach Verzehr von mit PA kontaminiertem Getreide wurde geschätzt, dass über einen Zeitraum von sechs bzw. zwei Monaten täglich 0,033 bzw. 0,66 mg/kg KG aufgenommen worden waren. Als Hauptalkaloide wurden Heliotrin bzw. Crotonanin und Crotaburmin angenommen (Mohabbat *et al.* 1976; Tandon *et al.* 1976; Krishnamachari *et al.* 1977; IPCS/INCHEM 1988).

Zudem finden sich in der Literatur einige neuere Fallberichte über Vergiftungen nach Aufnahme 1,2-ungesättigter PA (Ruan *et al.* 2015; Rollason *et al.* 2016; Sun *et al.* 2018). Aus diesen lassen sich aber keine belastbaren Aussagen über die von den Patienten aufgenommenen Mengen ableiten.

### 3.1.3.1.2 Genotoxisch-karzinogene Wirkungen 1,2-ungesättigter PA

In tierexperimentellen Untersuchungen, in denen Ratten 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 angenommen (IARC 1976; Danninger *et al.* 1983; IARC 1983; IPCS/INCHEM 1988; IARC 2002). So wurden bisher bspw. Lasiocarpin, Monocrotalin und Riddelliin von der Internationalen Krebsforschungsagentur der WHO (IARC, *International Agency for Research on Cancer*) als „möglicherweise krebserzeugend beim Menschen“ klassifiziert (IARC 2019). Für die meisten der bislang identifizierten 1,2-ungesättigten PA fehlen allerdings Daten, die diesbezüglich eine belastbare Einordnung erlauben würden. Allerdings existieren auch für weitere 1,2-ungesättigte PA Hinweise aus Tierstudien, dass diese ebenfalls ein kanzerogenes Potenzial aufweisen. Auch hinsichtlich der krebserzeugenden Wirkungen ist die Leber das wesentliche Zielorgan; PA-induzierte Tumoren fanden sich aber auch in weiteren Organen, bspw. in Lunge, Niere, Haut, Harnblase, Gehirn, Rückenmark, Pankreas und Nebenniere (Chen *et al.* 2010).

Die aussagekräftigsten Daten hinsichtlich der kanzerogenen Wirkungen – insbesondere mit Blick auf die Dosis-Wirkungs-Beziehung nach oraler Aufnahme – liefern zwei chronische Toxizitätsstudien, in denen das kanzerogene Potenzial von Lasiocarpin und Riddelliin nach lebenslanger oraler Aufnahme untersucht wurde (NCI 1978; NTP 2003). Diese sollen im Folgenden in den wesentlichen Punkten kurz dargestellt werden:

In der vom *National Cancer Institute* (NCI) durchgeführten Studie mit Lasiocarpin erhielten F344-Ratten die Substanz lebenslang über max. 104 Wochen mit dem Futter (0/ 7/ 15/ 30 mg Lasiocarpin/kg Futter  $\pm$  0/ 0,35/ 0,75/ 1,5 mg/kg KG und Tag). Je Dosisgruppe und Geschlecht wurden 24 Tiere untersucht. In der höchsten Dosisgruppe wurde bei beiden Geschlechtern eine ausgeprägte frühe substanzbedingte Mortalität beobachtet: Alle Männchen waren in der 88. Woche, alle Weibchen in der 69. Woche verstorben. Als sensitivster Endpunkt wurde eine erhöhte Inzidenz von Hämangiosarkomen der Leber identifiziert (Männchen: 0/23 (Kontrollen), 5/24 (Niedrigdosisgruppe), 11/23 (mittlere Dosisgruppe), 13/23 (Hochdosisgruppe); Weibchen: 0/24 (Kontrollen), 8/22 (Niedrigdosisgruppe), 7/24 (mittlere Dosisgruppe), 2/23 (Hochdosisgruppe)) (NCI 1978). Die frühe substanzbedingte Mortalität vermindert vermutlich eine adäquate Detektion der kanzerogenen Wirkung, insbesondere bei den weiblichen Ratten.

In der vom *National Toxicology Program* (NTP) durchgeführten Studie mit Riddelliin wurden sowohl B6C3F1-Mäuse als auch F344-Ratten via Schlundsonde lebenslang an fünf Tagen pro Woche über max. 105 Wochen mit Riddelliin behandelt (Männliche Mäuse: 0/ 0,1/ 0,3/ 1/ 3 mg/kg KG und Behandlungstag; Weibliche Mäuse: 0/ 3 mg/kg KG und Behandlungstag; Männliche Ratten: 0/ 1 mg/kg KG und Behandlungstag; Weibliche Ratten: 0/ 0,01/ 0,033/ 0,1/ 0,33/ 1 mg/kg KG und Behandlungstag). Die Ratten waren die sensitivere Spezies hinsichtlich der toxischen Effekte von Riddelliin. In der Hochdosisgruppe starben alle Männchen vor der 70. Woche und alle Weibchen vor der 97. Woche. Als Ursache für die hohe Mortalität in der Hochdosisgruppe wurde die behandlungsbedingte Tumorbildung angesehen. Bei den männlichen Ratten wurde die Behandlung daher nach 72 Wochen abgebrochen. Als sensitivster Endpunkt wurde eine erhöhte Inzidenz von Hämangiosarkomen der Leber identifiziert (Männchen: 0/50 (Kontrolle), 43/50 (1 mg/kg KG und Behandlungstag); Weibchen: 0/50 (Kontrolle), 0/50 (0,01 mg/kg KG und Behandlungstag), 0/50 (0,033 mg/kg KG und Behandlungstag), 0/50 (0,1 mg/kg KG und Behandlungstag), 3/50 (0,33 mg/kg KG und Behandlungstag), 38/50 (1 mg/kg KG und Behandlungstag)) (NTP 2003).

Außerdem wurde für verschiedene Vertreter der 1,2-ungesättigten PA gezeigt, dass diese ein genotoxisches Potenzial aufweisen. Die Verbindungen können sowohl *in vitro* nach metabolischer Aktivierung als auch *in vivo* zu einer Schädigung des genetischen Materials führen. So fanden sich in entsprechenden Untersuchungen durch PA induzierte DNA-Addukte, DNA-Quervernetzungen, unplanmäßige DNA-Reparatur, Mikrokerne,

Chromosomenaberrationen, Schwesterchromatidaustausche und Punktmutationen. Letztere wurden sowohl in Bakterien und in *Drosophila* als auch in transgenen Ratten nachgewiesen (Chen *et al.* 2010). In den Studien an Ratten wurde zudem gezeigt, dass nach Behandlung mit Riddelliin in den hepatischen Endothelzellen – die das Ausgangsgewebe der Hämangiosarkombildung darstellen – eine Korrelation zwischen den PA-spezifischen DNA-Addukten, der Mutationsrate und der Hämangiosarkombildung besteht (Chen *et al.* 2010). Zudem wurde in durch Riddelliin maligne transformierten Endothelzellen eine verstärkte Expression des Tumorsuppressors p53 und in Riddelliin-induzierten Hämangiosarkomen eine erhöhte Mutationsrate im *K-ras*-Protoonkogen beobachtet (Hong *et al.* 2003). Vor dem Hintergrund dieser Befunde wird davon ausgegangen, dass die Kanzerogenität durch die genotoxischen Wirkungen verursacht wird. Die charakteristischen DNA-Addukte werden grundsätzlich als ein initialer Schritt der chemischen Kanzerogenese angesehen (Fu 2017); der vollständige Mechanismus der in den tierexperimentellen Studien beobachteten kanzerogenen Wirkungen ist aber bislang noch nicht in allen Details verstanden.

### 3.1.3.2 Faktoren, welche die Toxizität *in vivo* beeinflussen

#### 3.1.3.2.1 Strukturchemische Grundlagen

Die charakteristischen toxischen Wirkungen werden primär von solchen PA vermittelt, die bestimmte Strukturmerkmale aufweisen (Mattocks 1986; IPCS/INCHEM 1988; Roeder 1992; NTP 2003; Fu *et al.* 2004; Teuscher *et al.* 2004; Li *et al.* 2011; Petzinger 2011b). Dazu gehören:

- Doppelbindung in 1,2-Position der Necinbase
- Veresterung der Hydroxylgruppe am C9 und/oder der Hydroxylgruppe am C7
- Verzweigung der Alkylseitenkette in mindestens einer der Necinsäuren

#### 3.1.3.2.2 Bioverfügbarkeit

In Untersuchungen mit Riddelliin, Senecionin und Adonifolin an Nagern hat sich gezeigt, dass diese 1,2-ungesättigten PA nach oraler Aufnahme rasch den systemischen Kreislauf erreichen können (Williams *et al.* 2002; Wang *et al.* 2011). Das Ausmaß der systemischen Bioverfügbarkeit einzelner PA kann sich allerdings in Abhängigkeit von der jeweiligen Struktur deutlich unterscheiden (Wang *et al.* 2011). Versuche mit humanen CaCo-2-Zellen deuten darauf hin, dass sich bereits die gastrointestinale Aufnahme über die Darmzellen in Abhängigkeit von der jeweiligen Struktur einzelner 1,2-ungesättigter PA deutlich unterscheiden kann (Hessel *et al.* 2014). Das Ausmaß der Resorption über die Darmbarriere stellt daher vermutlich einen wesentlichen Einflussfaktor für das toxische Potenzial einzelner 1,2-ungesättigter PA dar. Die systemische Bioverfügbarkeit der Muttersubstanz bzw. der *N*-Oxide spielt für die Beurteilung möglicher toxischer Wirkungen vermutlich allerdings eine untergeordnete Rolle, da es sich bei den 1,2-ungesättigten PA um Protoxine handelt, deren Metabolisierung und damit einhergehend die Toxifizierung bereits in der Leber stattfindet (Fu *et al.* 2004; Allgaier & Franz 2015). Entscheidend ist somit vermutlich der Anteil an Substanz, der nach Resorption im Darm die Leber erreicht und dort zum reaktiven Metaboliten umgesetzt wird.

### 3.1.3.2.3 Detoxifizierung

Der Metabolismus 1,2-ungesättigter PA sowie ihrer *N*-Oxide erfolgt insbesondere in der Leber und umfasst sowohl toxisierende (giftende) als auch detoxifizierende (entgiftende) Pfade (Mattocks 1982; Wiedenfeld *et al.* 2008). Das Ausmaß an Toxizität einzelner 1,2-ungesättigter PA hängt daher wahrscheinlich maßgeblich davon ab, welche der beiden Routen (Toxifizierung vs. Detoxifizierung) quantitativ dominiert. Eine wesentliche entgiftende Reaktion ist die durch Carboxylesterasen vermittelte Hydrolyse der Ester an Position C7 und C9 (Abbildung 2). Die bei der Spaltung frei werdenden Metaboliten in Form der Necinbase und der Necinsäuren sind gut wasserlöslich und werden rasch ausgeschieden – sie scheinen daher toxikologisch keine große Relevanz zu besitzen (Fu *et al.* 2004; Allgaier & Franz 2015). Die Hydrolysierbarkeit der Ester hat somit einen wesentlichen Einfluss auf das toxische Potenzial verschiedener 1,2-ungesättigter PA. Aufgrund der sterischen Hinderung werden Ester mit komplex verzweigten Necinsäuren langsamer hydrolysiert, weshalb diese Verbindungen prinzipiell eine höhere Toxizität aufweisen können (Mattocks 1982; Wiedenfeld *et al.* 2008). Die durch Cytochrom-P-450-Monooxygenasen (CYP) und/oder Flavin-abhängige Monooxygenasen (FMO) vermittelte *N*-Oxidation stellt einen weiteren, prinzipiell entgiftenden Stoffwechselweg dar, der aufgrund der strukturellen Voraussetzungen allerdings nur bei den 1,2-ungesättigten PA vom Retronecin- und Heliotridin-Typ möglich ist (Abbildung 2). Genau wie die oben genannten Metaboliten sind auch die *N*-Oxide gut wasserlöslich und werden in der Regel rasch ausgeschieden. Es ist aber zu beachten, dass oral aufgenommene *N*-Oxide durch Reduktasen im Darm und/oder der Leber wieder in die reduzierte und damit toxische Form der Alkaloide umgewandelt werden können (Allgaier & Franz 2015; Yang *et al.* 2017; Yang *et al.* 2019a). Neben diesen metabolischen Pfaden sind auch weitere potenziell entgiftende Wege denkbar. So wurde *in vitro* beispielsweise auch eine Glucuronidierung von 1,2-ungesättigten PA beobachtet (He *et al.* 2010).

### 3.1.3.2.4 Bildung reaktiver Metaboliten

Bei den 1,2-ungesättigten PA handelt es sich um Protoxine, d. h. die toxischen Wirkungen werden nicht von den Muttersubstanzen selbst, sondern von reaktiven Metaboliten, die im Rahmen der Verstoffwechslung gebildet werden können, vermittelt.

Die Toxifizierung 1,2-ungesättigter PA wird ebenfalls durch Enzyme des Cytochrom-P-450-Systems katalysiert. So beobachteten Ebmeyer *et al.*, dass das 1,2-ungesättigte PA Lasiocarpin in einer V79-Zelllinie, die humanes CYP3A4 exprimiert, zu einem Anstieg der Mikrokernrate führt, während dieser genotoxische Effekt in der CYP-defizienten Mutterzelllinie nicht beobachtet wurde (Ebmeyer *et al.* 2019). Auf Basis von *in vitro*-Untersuchungen mit humanen Supersomen lässt sich ableiten, dass beim Menschen insbesondere CYP3A4, CYP3A5 und CYP2A6, aber auch andere CYP-Enzyme, beteiligt zu sein scheinen (Ruan *et al.* 2014). Bei den PA vom Retronecin- und Heliotridin-Typ kommt es durch diese CYP-Enzyme vermittelt zu einer Hydroxylierung der Necinbase in Position C3 oder C8. Die dabei entstehende Halbaminallstruktur ist relativ instabil, weshalb es unter spontan ablaufender Abspaltung von Wasser zur Ausbildung eines aromatischen Pyrrol-Systems kommt. Bei den PA vom Otonecin-Typ erfolgt die Toxifizierung durch spontan ablaufende Umlagerungsreaktionen nach CYP-vermittelter Abspaltung der Methylgruppe an C4. Die zum aromatischen Pyrrol-System  $\alpha$ -ständigen Kohlenstoffatome werden durch das aromatische System „aktiviert“, weshalb es unter spontan ablaufender Abspaltung der Necinsäuren an C7 bzw. C9 zur Bildung hochreaktiver Carbokationen in dieser Position kommen kann. Bei diesen handelt es sich um starke Alkylantien, die kovalent an nukleophile Strukturen verschiedener Biomoleküle binden können. So kann es unter anderem zur Bildung von Protein- und DNA-Addukten kommen. Aufgrund der Bifunktionalität zahlreicher

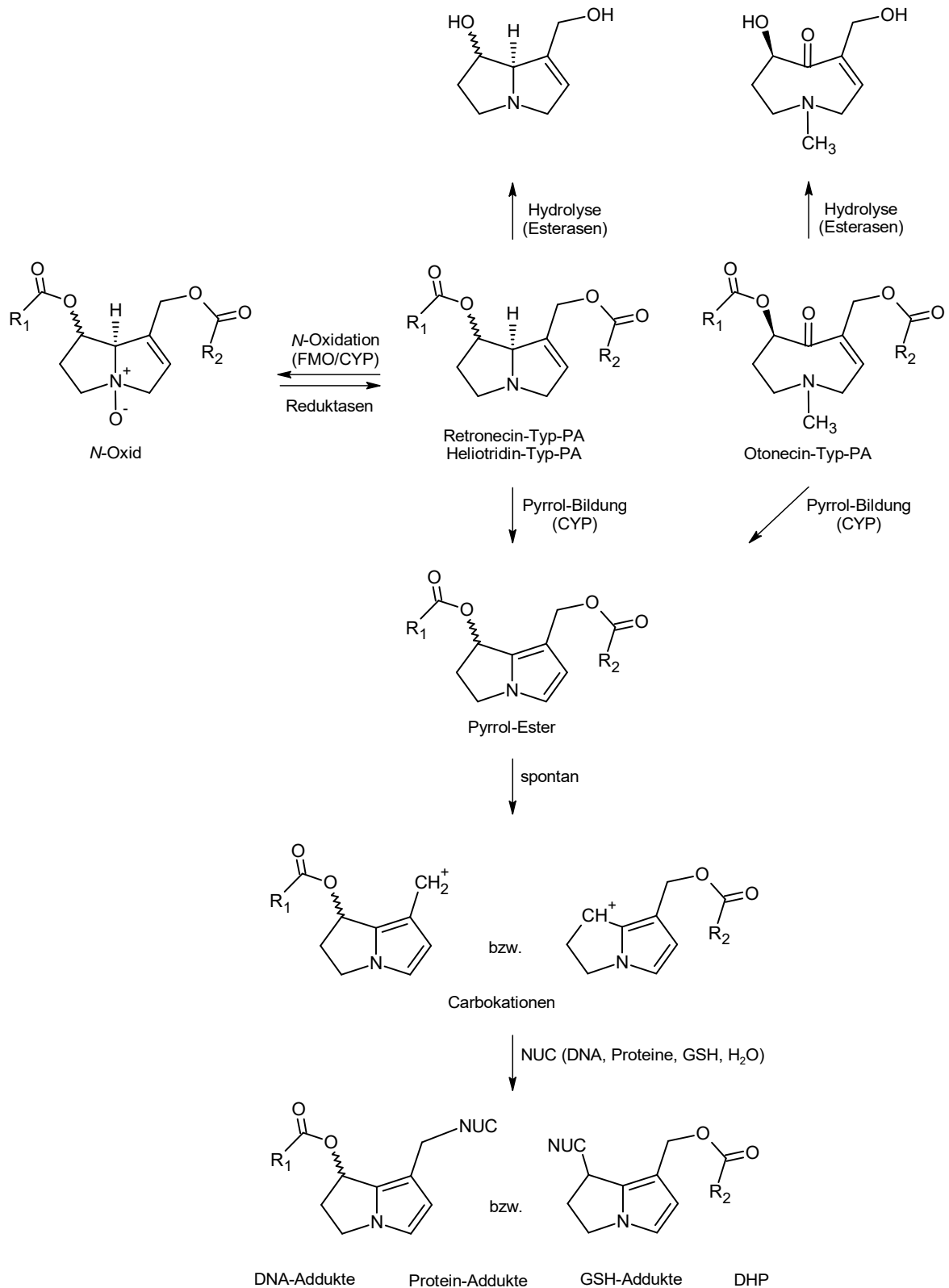


1,2-ungesättigter PA ist zudem die Quervernetzung dieser Strukturen (Protein-DNA-Crosslinks, DNA-DNA-Crosslinks) möglich (Abbildung 2) (Fu 2017).

Alternativ 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 (Abbildung 2). Dieses ist im Vergleich zu den Estern weniger reaktiv, besitzt aber immer noch alkylierende Eigenschaften (Fu *et al.* 2004; Xia *et al.* 2018). Des Weiteren können die reaktiven Metaboliten an reduziertes Glutathion (GSH) binden (Abbildung 2) (Xia *et al.* 2015; Chen *et al.* 2016). Insbesondere die Reaktion mit GSH galt lange als Entgiftungsmechanismus. Neuere Erkenntnisse deuten allerdings darauf hin, dass die gebildeten GSH-Derivate und auch weitere potenzielle Pyrrol-Metaboliten ebenfalls eine gewisse Reaktivität aufweisen. So konnten Xia *et al.* an einem Modell mit der humanen Zelllinie HepG2 demonstrieren, dass auch durch verschiedene Pyrrol-Metaboliten (u. a. 7,9-Di-Valin-DHP, 7-Valin-DHP, 7-GSH-DHP, 7-Cystein-DHP, Dehydrotetronecin) charakteristische DNA-Addukte generiert werden (Xia *et al.* 2018).

Kürzlich konnten He *et al.* im Zellkulturversuch außerdem zeigen, dass es in Anwesenheit der potenziellen Metaboliten 7-GSH-DHP, 7-Cystein-DHP und 7,9-Cystein-DHP, wie auch in Anwesenheit von Dehydromonocrotalin und Dehydroriddelliin, in der humanen bronchoalveolären Zelllinie A549 zur Bildung charakteristischer DNA-Addukte kommt, die durch die Muttersubstanzen Riddelliin und Monocrotalin aufgrund der fehlenden metabolischen Kapazität dieser Zelllinie nicht gebildet wurden (He *et al.* 2019). Derartige Metaboliten, die im Vergleich zu den primär gebildeten Pyrrol-Estern über eine höhere Stabilität und bessere Wasserlöslichkeit verfügen, könnten somit eine Art Transportform darstellen und somit – zumindest teilweise – eine Erklärung für die in extrahepatischen Geweben beobachtete Toxizität der 1,2-ungesättigten PA liefern (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.

Die gesättigten PA vom Platynecin-Typ, für die grundsätzlich kein oder höchstens ein geringes toxisches Potenzial postuliert wird, weisen hingegen einen abweichenden Metabolismus auf. So haben Ruan *et al.* *in vitro* beobachtet, dass bei der Inkubation von Platynecin-Typ-PA in Anwesenheit von S9 aus Rattenleber als metabolischem Aktivierungssystem keine reaktiven Pyrrol-Ester generiert werden – es erfolgte aber dennoch eine ausgeprägte CYP-katalysierte Umsetzung, die allerdings zur Bildung stabiler Metaboliten führte (Ruan *et al.* 2013).



**Abbildung 2:** Wesentliche metabolische Pfade 1,2-ungesättigter PA. R<sub>1</sub> und R<sub>2</sub>: Necinsäuren; FMO: Flavin-abhängige Monooxygenasen; GSH: Glutathion; DHP: (±)-6,7-Dihydro-7-hydroxy-1-hydroxymethyl-5H-pyrrolizin, NUC: nukleophile Strukturen, bspw. DNA oder Proteine.

### 3.1.3.3 Übertragbarkeit tierexperimenteller Befunde auf den Menschen

#### 3.1.3.3.1 Speziesunterschiede hinsichtlich der Suszeptibilität

Es ist bekannt, dass sich verschiedene Spezies hinsichtlich ihrer Empfindlichkeit gegenüber den toxischen Wirkungen 1,2-ungesättigter PA unterscheiden – insbesondere auch mit Blick auf die nicht-karzinogenen Wirkungen. Beispielsweise gelten Huhn, Ente, Pferd, Rind, Schwein, Ratte und Maus als deutlich suszeptibler als Schaf, Ziege, Kaninchen und Meerschweinchen. Außerdem können Unterschiede hinsichtlich der Empfindlichkeit auch zwischen verschiedenen Tierstämmen und ggf. auch zwischen den Geschlechtern bestehen (Fu *et al.* 2004).

Als Ursache für die speziesabhängige Suszeptibilität werden Unterschiede in der Balance zwischen entgiftenden und giftenden metabolischen Wegen verantwortlich gemacht (Fu *et al.* 2004). Aufgrund der Komplexität des Metabolismus 1,2-ungesättigter PA können die für die Toxizität wichtigen Unterschiede dabei verschiedene metabolische Schritte betreffen, z. B.:

- Hydrolyse der (Pyrrol-)Ester durch Esterasen
- N-Oxidation durch CYP und FMO
- Bildung des reaktiven Pyrrol-Systems durch CYP
- Bindung der Pyrrol-Metaboliten an GSH durch Glutathion-S-Transferasen (GSTs)

Darüber hinaus könnte auch der gastrointestinale Metabolismus, gerade bei den Wiederkäuern, die Toxizität mitbestimmen (Fu *et al.* 2004).

Der Einfluss des Metabolismus auf die speziesabhängige Toxizität 1,2-ungesättigter PA ist daher nur schwer experimentell zu erfassen. So beobachteten Kolrep *et al.* bspw. kürzlich in einer *in vitro*-Untersuchung, dass verschiedene 1,2-ungesättigte PA gerade in Gegenwart von S9-Leber-Präparationen der Spezies gut umgesetzt wurden, die als wenig empfindlich gelten (Kolrep *et al.* 2018). Da in dieser Studie allerdings nur die Abnahme der Muttersubstanz, nicht aber die Bildung der für die Toxizität relevanten Metaboliten erfasst wurde, lassen diese Befunde keine vergleichende Aussage über die relevante Bildung der reaktiven Pyrrol-Ester in verschiedene Spezies zu. Dies wird u. a. durch eine Arbeit von Geburek *et al.* deutlich. In dieser wurde anhand von metabolischen Untersuchungen mit Hilfe von Lebermikrosomen gezeigt, dass die Abnahme der Muttersubstanz nicht notwendigerweise mit der Bildung reaktiver Metaboliten – in dieser Studie über die Bildung von Glutathion-Addukten indirekt erfasst – korrelieren muss (Geburek *et al.* 2020).

Um Aussagen zur Empfindlichkeit verschiedener Spezies zu erlangen, erscheint es daher günstiger, die Bildung der reaktiven Pyrrol-Metaboliten, ggf. indirekt, zu erfassen. So konnten Lin *et al.* Speziesunterschiede in der Empfindlichkeit anhand der Bildung reaktiver Pyrrol-Metaboliten bestimmen. Dabei zeigte sich, dass das Niveau Gewebe-gebundener Pyrrol-Derivate in Gegenwart von Mikrosomen aus der Rattenleber deutlich höher war als in Gegenwart von Lebermikrosomen des Meerschweinchens, das als wenig empfindlich gilt (Lin *et al.* 2002). Diese Ergebnisse decken sich mit Befunden von White *et al.*, wonach die Verabreichung von Retrorsin u. a. in Ratten zu deutlich höheren hepatischen Pyrrol-Protein-Addukt-Niveaus führte als in Meerschweinchen (White *et al.* 1973). Diese Speziesunterschiede resultieren vermutlich aus der hohen Esterase-vermittelten Hydrolyserate 1,2-ungesättigter PA beim Meerschweinchen. So ist aus *in vitro*-Untersuchungen bekannt, dass die 1,2-ungesättigten PA Monocrotalin und Clivorin in Gegenwart von Lebermikrosomen des Meerschweinchens primär über Esterasen hydrolysiert und somit entgiftet werden. Im Gegensatz dazu wurden die Verbindungen in den

gleichen Studien in Gegenwart von Ratten-Lebermikrosomen primär zu reaktiven Pyrrol-Metaboliten umgesetzt (Dueker *et al.* 1992; Lin *et al.* 2002). Auch in einer Studie jüngeren Datums von Fashe *et al.* wurde *in vitro* gezeigt, dass die Bildung reaktiver Pyrrol-Metaboliten ((3*H*-Pyrrolizidin-7-yl)methanol & Mono-GSH-Pyrrol-Addukte) in Gegenwart von Lebermikrosomen von als suszeptibel bekannten Spezies höher war als in Anwesenheit von Lebermikrosomen weniger empfindlicher Spezies (Fashe *et al.* 2015).

### 3.1.3.3.2 Übertragbarkeit auf den Menschen

Vor dem Hintergrund der beschriebenen Speziesunterschiede stellt sich die Frage nach der Übertragbarkeit tierexperimenteller Daten auf den Menschen. Während das Auftreten nicht-karzinogener Wirkungen nach kurz- bzw. mittelfristiger Aufnahme höherer Dosen an 1,2-ungesättigten PA durch zahlreiche Fallberichte auch für den Menschen gut belegt ist (Dai *et al.* 2007; Kakar *et al.* 2010; Molyneux *et al.* 2011; Ma *et al.* 2018; Zhuge *et al.* 2019), fehlen epidemiologische Untersuchungen, die über das potenzielle karzinogene Potenzial beim Menschen Aufschluss geben könnten. Die verfügbaren Daten deuten aber darauf hin, dass das in tierexperimentellen Studien beobachtete genotoxisch-karzinogene Potenzial 1,2-ungesättigter PA grundsätzlich auch für den Menschen relevant ist.

Da sowohl die nicht-karzinogenen als auch die genotoxisch-karzinogenen Wirkungen 1,2-ungesättigter PA auf die Bildung der reaktiven Pyrrol-Ester zurückgeführt werden (Fu 2017; Ma *et al.* 2018), lässt sich bereits durch das auch beim Menschen beobachtete Auftreten der nicht-karzinogenen Schädigungen schlussfolgern, dass die Umsetzung der 1,2-ungesättigten PA in die toxischen Pyrrol-Ester zumindest qualitativ auch im Menschen erfolgt. Diese Schlussfolgerung wird dadurch gestützt, dass inzwischen in mehreren Studien gezeigt wurde, dass im Blut von Patienten mit schweren PA-induzierten Leberschäden charakteristische 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 zudem gezeigt, dass das Niveau der PA-induzierten Pyrrol-Protein-Addukte und das Niveau der für die genotoxisch-karzinogenen Wirkung verantwortlich gemachten DNA-Addukte grundsätzlich miteinander korrelieren (Xia *et al.* 2016). Weiterhin zeigten Befunde einer *in vitro*-Studie von Xia *et al.*, dass die Umsetzung von Riddelliin zu DHP und Riddelliin-*N*-Oxid in Gegenwart von Lebermikrosomen von Mensch bzw. Ratte in ähnlichem Ausmaß erfolgt. Wurde den Reaktionsansätzen Kalbsthymus-DNA als Nukleophil zugesetzt, so kam es außerdem in vergleichbarem Maße zur Bildung der charakteristischen DNA-Addukte (Xia *et al.* 2003). Auch die Daten einer weiteren kürzlich veröffentlichten Studie von Geburek *et al.*, in der mit Hilfe von Lebermikrosomen von Mensch und Ratte die metabolische Aktivierung zu reaktiven Metaboliten untersucht wurde, deuten darauf hin, dass die Bioaktivierung in ähnlichem Ausmaß erfolgt (Geburek *et al.* 2020).

Im Gesamtbild deuten die Befunde somit 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-karzinogenen Wirkungen aus Versuchen an Ratten auf den Menschen übertragen lassen.

Eine kürzlich von Ning *et al.* durchgeführte Studie deutet ferner 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 (Ning *et al.* 2019). Im Rahmen dieser Studie wurden aber verschiedene Annahmen gemacht, die noch nicht abschließend beurteilt werden können.

### 3.1.3.4 Kanzerogene Potenz verschiedener 1,2-ungesättigter PA

Wie bereits ausgeführt, wird die Bildung reaktiver Pyrrol-Ester bzw. die durch diese verursachte Schädigung zellulärer Strukturen für die toxischen Wirkungen 1,2-ungesättigter PA verantwortlich gemacht (Fu 2017; Ma *et al.* 2018). Die Umsetzung in reaktive Pyrrol-Metaboliten erscheint grundsätzlich für alle 1,2-ungesättigten PA möglich; für einige Vertreter wurde sie auch experimentell bereits belegt (Xia *et al.* 2013). Da sich die Toxikokinetik der einzelnen Verbindungen aber in Abhängigkeit von der jeweiligen Struktur unterscheiden kann, ist davon auszugehen, dass dies einen Einfluss auf die Wirkstärke verschiedener Vertreter der 1,2-ungesättigten PA haben kann und sich verschiedene 1,2-ungesättigte PA daher in ihrer toxischen Potenz unterscheiden. Derartige Unterschiede wurden auch experimentell bereits für verschiedene Derivate im Hinblick auf unterschiedliche Endpunkte nachgewiesen.

Dennoch wurden die einzelnen 1,2-ungesättigten PA im Rahmen bisheriger Risikobewertungen hinsichtlich ihrer toxischen Potenz als Gruppe äquipotenter Stoffe mit kumulativer Wirkung berücksichtigt. Seit einiger Zeit wird aber zunehmend diskutiert, in welcher Weise die unterschiedliche Potenz einzelner 1,2-ungesättigter PA und ihrer *N*-Oxide künftig besser berücksichtigt werden können. Eine umfassende Behandlung dieser Thematik findet sich u. a. in einer Arbeit von Merz und Schrenk (Merz & Schrenk 2016).

Bislang sind verschiedene Arten von Daten verfügbar, die Hinweise auf die unterschiedliche toxische Potenz verschiedener 1,2-ungesättigter PA liefern. Die Datenlage umfasst dabei insbesondere die folgenden Endpunkte:

- LD<sub>50</sub>-Werte in Nagern (i.p.-Applikation, i.v.-Applikation)
- Primäre DNA-Schädigung, bspw. DNA-Addukte, DNA-Quervernetzungen, DNA-Strangbrüche (*in vitro* und z. T. *in vivo*)
- Chromosomenschäden, bspw. Mikrokernbildung, Chromosomenaberrationen (*in vitro*)
- Mutagenität, bspw. in Bakterien und in *Drosophila*
- Zytotoxizität in Zellkultur (*in vitro*)

Darauf basierend schlagen bspw. Merz und Schrenk auf Grundlage von Daten zur akuten Toxizität in Nagern, zur Zytotoxizität in Zellkultur und zur Genotoxizität in der Tauflye *Drosophila* 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 (Merz & Schrenk 2016). Chen *et al.* leiteten „interim relative potency“-Faktoren hingegen auf Basis von Daten zur Kanzerogenität für nur einige wenige 1,2-ungesättigte PA ab (Chen *et al.* 2017). Daneben haben Allemang *et al.* die Genotoxizität verschiedener 1,2-ungesättigter PA im Mikrokerntest an der humanen HepaRG-Zelllinie untersucht und schlagen diese Befunde als eine mögliche Grundlage für einen Potenzvergleich vor (Allemang *et al.* 2018). Lousse *et al.* haben das intrinsische genotoxische Potenzial 37 verschiedener Vertreter hingegen an HepaRG-Zellen mittels des  $\gamma$ H2AX-Testsystems untersucht (Lousse *et al.* 2019) und Lester *et al.* studierten die intrinsische Potenz verschiedener 1,2-ungesättigter PA anhand der Bildung von DNA-Addukten *in vitro* in einem metabolisch kompetenten Rattenleberzellsandwich-Modell (Lester *et al.* 2019). In einer kürzlich erschienenen Publikation wurde zudem das zytotoxische Potenzial verschiedener 1,2-ungesättigter PA an primären Rattenhepatozyten *in vitro* untersucht (Gao *et al.* 2020).

Außerdem wurde bspw. auch festgestellt, dass die *N*-Oxide im Vergleich zu den Muttersubstanzen üblicherweise eine geringere Potenz besitzen. Die beobachteten Unterschiede variierten dabei jedoch in Abhängigkeit vom jeweiligen Testsystem (Xia *et al.* 2013; Field *et al.* 2015; Merz & Schrenk 2016; He *et al.* 2017; Yang *et al.* 2017). Zudem können die *N*-Oxide durch bakterielle Reduktasen im Darm bzw. durch hepatische Reduktasen in die reduzierte und damit toxischere Form umgewandelt werden (Allgaier & Franz 2015; Yang *et al.* 2017; Yang *et al.* 2019a). Aus konservativen Erwägungen wird daher für die *N*-Oxide auch weiterhin üblicherweise die gleiche toxische Potenz berücksichtigt, wie bei den Muttersubstanzen.

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 wissenschaftlichen Gründen noch nicht sinnvoll eingesetzt werden können. Insbesondere erlauben die bislang vorgeschlagenen Potenzfaktoren noch keine belastbaren Rückschlüsse auf die genotoxisch-karzinogene Potenz verschiedener Derivate nach oraler Aufnahme *in vivo*. Diese Einschätzung deckt sich mit der Beurteilung der EFSA (EFSA 2017b). Insgesamt würde die Berücksichtigung von auf dem derzeitigen Kenntnisstand abgeleiteten Potenzfaktoren vor dem Hintergrund der verschiedenen Unsicherheiten in den unterschiedlichen Bereichen (Toxikologie, Analytik, Expositionsschätzung) eine Genauigkeit andeuten, die tatsächlich noch nicht gegeben wäre.

#### 3.1.4 Analytische Bestimmung der Gehalte an 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, wie Tee- und Kräuterteeprodukten, NEM, Pollen und Pollenprodukten sowie bestimmten Gewürzen. Die diskutierten Höchstgehalten entsprechen dabei – je nach Lebensmittelgruppe – dem 80. bis 98. Perzentil der gegenwärtig in Lebensmitteln vorkommenden Gehalte (EFSA 2017b) und sind nicht unmittelbar toxikologisch abgeleitet. Der Höchstgehalt muss sich auf ein klar definiertes Spektrum an Einzelanalyten beziehen und ist als sogenannter *lower bound*-Gehalt zu bestimmen. Das bedeutet, dass Einzelanalyten, die in der Probe nicht nachgewiesen wurden oder deren Gehalte unterhalb der Bestimmungsgrenze liegen, mit dem numerischen Wert von „null“ in die Summenberechnung einfließen.

Die Biodiversität von Pflanzen, die in der Lage sind PA zu bilden, ist sehr hoch. Mittlerweile wurden die Verbindungen in über 600 verschiedenen Pflanzenarten nachgewiesen, die größtenteils aus den Familien der Asteraceae, Boraginaceae und Fabaceae stammen. Diese hohe biologische Variabilität drückt sich in einer hohen Anzahl an biosynthetisierten Strukturen aus, so dass mehrere Hundert verschiedene PA Verbindungen bekannt sind (Wiedenfeld *et al.* 2008). Zur Schätzung der Exposition von Verbraucherinnen und Verbrauchern gegenüber 1,2-ungesättigten PA sollte deren analytische Bestimmung möglichst quantitativ sein. Hierfür wurden in den letzten Jahren zwei unterschiedliche methodische Ansätze verfolgt:

- Bei der **Summenparameter-Analytik** werden die einzelnen PAs mittels chemischer Schritte in die ihnen gemeinsamen Grundkörper überführt und diese im Anschluss quantitativ bestimmt.
- Bei der **zielgerichteten („targeted“)-Analytik** werden die Gehalte einzelner Toxine bestimmt, welche nachfolgend summiert werden. Dies erfolgt im Allgemeinen mit Beschränkung auf Markersubstanzen, für die Referenzstandards verfügbar sind.

### 3.1.4.1 Summenparameter-Analytik

Die Summenparameter-Analytik zur Quantifizierung 1,2-ungesättigter PA zielt auf die Überführung der vielen natürlich vorkommenden Einzelverbindungen in die wenigen ihnen gemeinsamen Necinbasen-Grundkörper (vergleiche Abbildung 1). Die Anzahl der zu analysierenden Verbindungen bzw. der benötigten Referenzsubstanzen wird dadurch drastisch reduziert und der Gesamtgehalt an 1,2-ungesättigten PA wird als Grundkörper-Äquivalent quantifiziert. Die Richtigkeit des mit diesem Verfahren bestimmten Gehalts wird dadurch beeinflusst, dass alle PA-Strukturen quantitativ in den Grundkörper überführt werden müssen, ohne dass eine reaktionsbedingte Zersetzung auftritt. Eine chemische Überführung ist für die 1,2-ungesättigten PA des Otonecin-Necinsbasentyps nicht möglich. Die Vertreter dieses Strukturtyps können mit dieser Methode somit nicht erfasst werden.

Bei der Summenparameter-Analytik müssen die einzelnen PA, die in der *N*-Oxid Form vorliegen zunächst durch Reduktion mittels Zink-Staub zu ihren korrespondierenden tertiären Basen reduziert werden. Nach einer Anreicherung bzw. Aufreinigung mittels Festphasenextraktion werden alle in der Probe vorliegenden PA in einem zweiten Reduktionsschritt in den Necinbasen-Grundkörper überführt, der allen PA zugrunde liegt. Dabei wird zur Reduktion der Esterbindung häufig  $\text{LiAlH}_4$  in Tetrahydrofuran verwendet (Kempf *et al.* 2008). Optimierte Methoden nutzen anstelle der zweistufigen Reduktion auch eine direkte Überführung der *N*-Oxide in die Grundkörper (Cramer *et al.* 2013). Die Retronecin- bzw. Heliotridin-Grundkörper werden im Allgemeinen nach einer Derivatisierung mittels Massenspektrometrie erfasst, was sowohl in Kombination mit einem flüssigchromatographischen als auch mit einem gaschromatographischen Trennsystem erfolgen kann (Kempf *et al.* 2008; Cramer *et al.* 2013). Eine große Herausforderung für die Routinetauglichkeit der Methode ist die Notwendigkeit eines internen Standards zur Quantifizierung und zur Korrektur von Aufarbeitungsverlusten. Derzeit wird ein isotopenmarkiertes Retronecinderivat verwendet, das laborintern zu synthetisieren ist.

### 3.1.4.2 Zielgerichtete („targeted“)-Analytik

Bei der zielgerichteten Analytik werden die Gehalte einzelner Verbindungen bestimmt und nachfolgend summiert. Diese Verbindungen sind strukturell bekannt und stehen im Allgemeinen auch als Referenzstandards zur Verfügung. Das derzeit weitverbreitetste Verfahren in der Analytik von unerwünschten Stoffen in Lebensmitteln ist die Flüssigchromatographie in Kombination mit der Massenspektrometrie (LC-MS/MS). Hierbei werden hauptsächlich Tandem-Massenspektrometer (auch Triple-Quadrupole 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. Diese wird mittels doppelter Fokussierung der Masse erreicht, indem im ersten Quadrupol des Tandem-Massenspektrometers ein Precursor-Ion einer bestimmten Masse selektiv gefiltert wird. Im Fall der 1,2-ungesättigten PA ist dies in der Regel das im positiven Ionisationsmodus gebildete protonierte Molekülion. Nur dieses Precursor-Ion kann den ersten Quadrupol passieren. Die durch Fragmentation entstehenden substanzspezifischen Produkt-Ionen werden im zweiten Massenspektrometer detektiert. Generell gilt ein Analyt als eindeutig in einer Probe identifiziert, wenn die Retentionszeit der Chromatographie und zusätzlich mindestens zwei Massenübergänge vom Precursor-Ion zu Produkt-Ionen innerhalb eines definierten Intensitätsverhältnisses detektiert werden und dabei mit der Referenzsubstanz („target“) übereinstimmen (SANTE 2017). Auch Massenspektrometer, die ihre Selektivität auf Basis der Hochauflösung erlangen, werden vermehrt für die Analytik 1,2-ungesättigter PA eingesetzt. Die dabei erzeugten hochaufgelösten Full-Scan-Daten bieten insbesondere die Möglichkeit eine quasi unlimitierte Anzahl von

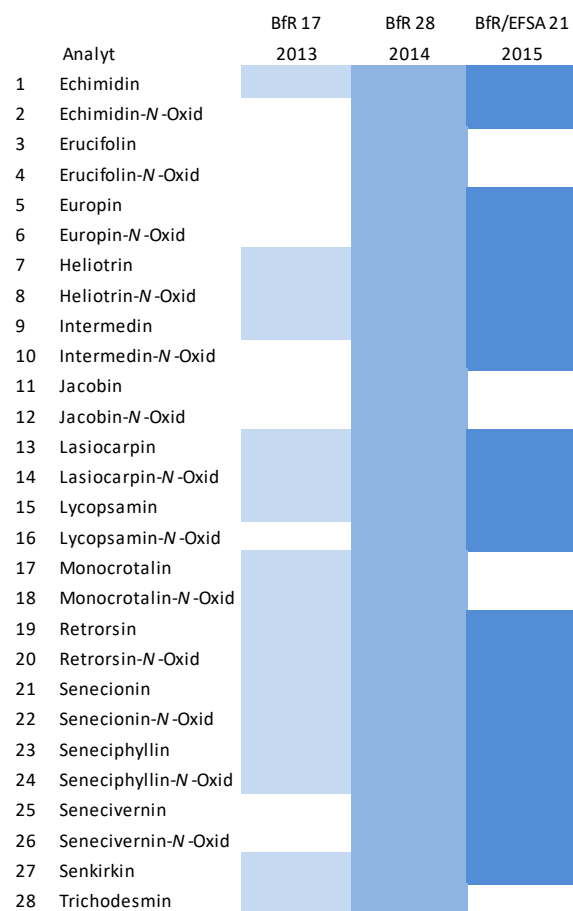
Analyten innerhalb einer Messung zu bestimmen. Die Kriterien zur Identifizierung sind beispielsweise im „Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues and analysis in food and feed“ beschrieben (SANTE 2017). Hierbei gilt ein Analyt als identifiziert, wenn, zusätzlich zur Retentionszeit, die akkuraten Massen von mindestens zwei Ionen mit einer Massengenauigkeit von mindestens 5 ppm übereinstimmen.

### 3.1.4.3 Analytauswahl

Im Rahmen der Lebensmittelüberwachung wird derzeit fast ausschließlich die *targeted*-Analytik eingesetzt. Mit diesem Verfahren ist es nicht möglich, den Gesamtgehalt an 1,2-ungesättigten PA als Summe aller natürlich vorkommender Einzelverbindungen zu bestimmen. Vielmehr fließen nur die Verbindungen in die Quantifizierung ein, auf die gezielt untersucht wird. Welche Analyten in die Quantifizierung einfließen, ist für die zukünftige Überwachung von Höchstgehalten genau festzulegen, um einen einheitlichen Vollzug bei der Überwachung der Höchstgehalte sicherzustellen. Die in Tabelle 1 zusammengefassten Analyten stellen den derzeitigen Konsens bezüglich des methodischen Analytenspektrums in Europa dar. Die Festsetzung der Analytauswahl basierte zum Zeitpunkt der Etablierung der Methoden in erster Linie auf der Verfügbarkeit der Referenzstandards. Als im Jahr 2013 den zuständigen Überwachungsbehörden die Problematik von PA-bildenden Pflanzen als Kontaminationsquelle in der Produktion von pflanzlichen Lebensmitteln bewusst wurde, waren 17 Analyten im Analytspektrum der Methoden. Im nachfolgenden Jahr wurden die Methoden auf 28 1,2-ungesättigte PA erweitert. Auf Basis dieser Analytauswahl wurden in Deutschland und in anderen EU-Mitgliedsstaaten Gehalte an 1,2-ungesättigten PA in vielen Lebensmitteln bestimmt. Um eine Vergleichbarkeit von alten und neueren Gehaltsdaten zu ermöglichen, wurden etablierte Methoden nicht mehr um Referenzstandards erweitert, die zu einem späteren Zeitpunkt verfügbar wurden. Dass das Analytspektrum von Methoden nicht mehr erweitert wurde, obwohl in der Natur eine weitaus höhere Zahl an 1,2-ungesättigten PA gebildet wird, kann auch dadurch begründet werden, dass der Gesamtgehalt in PA bildenden Pflanzenarten durch einige wenige Hauptverbindungen („Markersubstanzen“) repräsentiert wird (Mädge 2020). Dies spiegelt sich auch im Kontaminationsprofil von Lebensmitteln wider. Die Auswertung der Gehaltsdaten vieler Proben zeigten, dass bestimmte 1,2-ungesättigte PA nicht in quantitativ relevanten Mengen vorkommen. Das bedeutet in der Praxis, dass eine Erweiterung von Methoden um zusätzliche Verbindungen den analytischen Aufwand erhöht, aber zu keiner signifikanten Erhöhung des quantifizierten „Gesamtgehalt“ an 1,2-ungesättigten PA führt.

Auf dieser Basis empfahl das BfR im Jahr 2015 eine Reduktion des Analytspektrums der Methoden von 28 auf 21 Analyten (BfR 2015, Tabelle 1). Dies ist mittlerweile in Übereinstimmung mit der derzeitigen Empfehlung der EFSA, die anfänglich die Analyse von 17 Verbindungen empfahl (Abbildung 3).





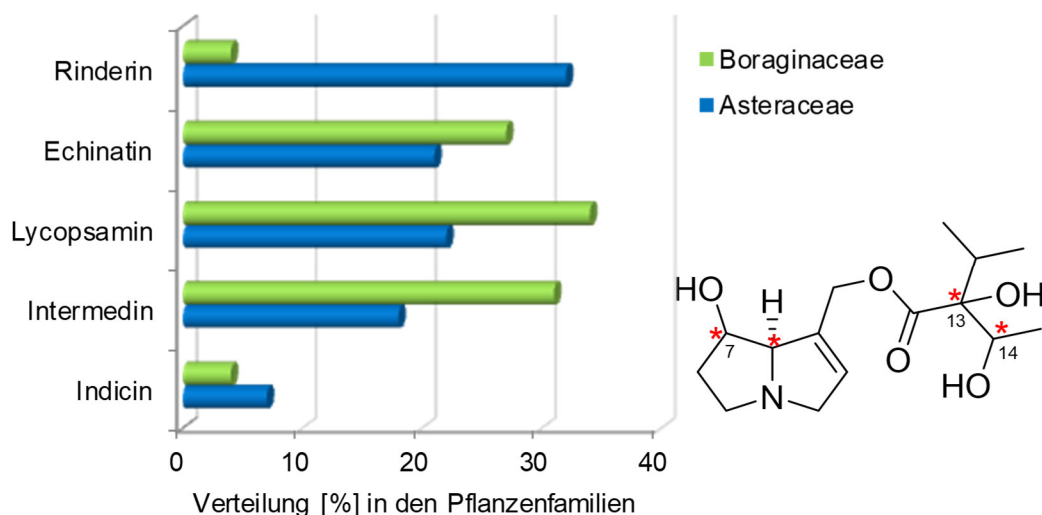
**Abbildung 3:** Zeitliche Entwicklung der Festsetzung des Analytspektrums zur Bestimmung des Gesamtgehalts an 1,2-ungesättigten PA.

Eine Sondersituation ergibt sich für PA, die als Isomere vorkommen. 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. Die wichtigsten natürlichen Isomere der jeweiligen 1,2 ungesättigten PA sind in Tabelle 1 dargestellt. Beispielsweise besitzt die Struktur von 1,2 ungesättigten PA der Intermedingruppe vier Kohlenstoffatome, an denen Stereozentren vorliegen können, sodass theoretisch das Vorkommen 16 verschiedener Stereoisomere möglich wäre (siehe Abbildung 4).

**Tabelle 1:** Derzeit vom BfR vorgeschlagene Analytauswahl zur Überwachung der diskutierten Höchstgehalte für das Vorkommen von 1,2 ungesättigten PA in Lebensmitteln als Summe der Einzelgehalte (BfR 2016a)

PA [Abkürzung]	Art der Esterform	Necinbase	Natürliche Isomere
Echimidin [Em]	Offenkettiger Diester	Retronecin	Heliosupin [Hs]
Echimidin- <i>N</i> -oxid [EmN]	Offenkettiger Diester	Retronecin	Heliosupin-NO [HsN]
Europin [Eu]	Monoester	Heliotridin	
Europin- <i>N</i> -oxid [EuN]	Monoester	Heliotridin	
Heliotrin [Ht]	Monoester	Heliotridin	
Heliotrin- <i>N</i> -oxid [HtN]	Monoester	Heliotridin	
Intermedin [Im]	Monoester	Retronecin	Lycopsamin [Ly], Indicin [Id], Echinatin [En], Rinderin [Rn]
Intermedine- <i>N</i> -oxid [ImN]	Monoester	Retronecin	Lycopsamin-NO [LyN], Indicin-NO [IdN], Echinatin-NO [EnN], Rinderin-NO [RnN]
Lycopsamin [Ly]	Monoester	Retronecin	Intermedin [Im], Indicin [Id], Echinatin [En], Rinderin [Rn]
Lycopsamin- <i>N</i> -oxid [LyN]	Monoester	Retronecin	Intermedin-NO [ImN], Indicin-NO [IdN], Echinatin-NO [EnN], Rinderin-NO [RnN]
Lasiocarpin [Lc]	Offenkettiger Diester	Heliotridin	
Lasiocarpin- <i>N</i> -oxid [LcN]	Offenkettiger Diester	Heliotridin	
Retrorsin [Re]	Zyklischer Diester	Retronecin	Usaramin [Us]
Retrorsin- <i>N</i> -oxid [ReN]	Zyklischer Diester	Retronecin	Usaramin-NO [UsN]
Senecionin [Sc]	Zyklischer Diester	Retronecin	Senecivernin [Sv], Integerrimin [Ig]
Senecionin- <i>N</i> -oxid [ScN]	Zyklischer Diester	Retronecin	Senecivernin-NO [SvN], Integerrimin-NO [IgN]
Senecivernin [Sv]	Zyklischer Diester	Retronecin	Senecionin [Sc], Integerrimin [Ig]
Senecivernin- <i>N</i> -oxid [SvN]	Zyklischer Diester	Retronecin	Senecionin-NO [ScN], Integerrimin-NO [IgN]
Seneciphyllin [Sp]	Zyklischer Diester	Retronecin	Spartioidin [St]
Seneciphyllin- <i>N</i> -oxid [SpN]	Zyklischer Diester	Retronecin	Spartioidin-NO [StN]
Senkirkin [Sk]	Zyklischer Diester	Otonecin	

In der Literatur wurden bisher fünf Isomere beschrieben. Sowohl die Pflanzenfamilie der Asteraceae (vornehmlich Gattung *Eupatorium*) als auch die der Boraginaceae (fast alle Gattungen) sind in der Lage, diese Isomere zu bilden, was für die Überwachung von Kontaminationen in Lebensmitteln bedeutet, dass alle fünf dieser Isomere von Relevanz sind. Das derzeit empfohlene Analytspektrum basiert in erster Linie auf Referenzstandards, die zum Zeitpunkt der Etablierung der Methoden verfügbar waren. Bezogen auf die in Abbildung 4 dargestellten Verbindungen waren das Lycopsamin und Intermedin. Da die etablierten Methoden nicht mehr um Indicin, Echinatin oder Rinderin erweitert wurden und die co-eluierenden Isomere analytisch nicht eindeutig unterscheidbar sind, wurden die Echinatin- und Rinderin-Gehalte in Proben, die mit *Eupatorium* kontaminiert waren, als Lycopsamin und Intermedin berichtet. In der Wahrnehmung und Bewertung der Häufigkeit einzelner PA-Verbindungen drückt sich dies dann so aus, dass Lycopsamin und Intermedin häufig gemeldet werden, ihre Isomere aber nicht.



**Abbildung 4:** Natürlich gebildete Isomere der Intermedin-Gruppe und ihre Verteilung in der Familie der Asteraceae (oben) und Boraginaceae (unten) (Hartmann & Witte 1995; Dubecke et al. 2011).

Aus den hier dargelegten Gründen wäre für die Festlegung des Analytspektrum zur Überwachung des Gehalts an 1,2-ungesättigten PA der pragmatischste Ansatz, die bisher ausgewählten 21 Analyten aus Tabelle 1 beizubehalten und zusätzlich die Isomere im Analytspektrum mit einzubeziehen. Dieses erweiterte Analytspektrum entspricht der bisher angewandten analytischen Praxis und würde die Vergleichbarkeit bereits erzeugter Gehaltsdaten ermöglichen. Aus analytischer Sicht wäre dies der praktikabelste Weg einen einheitlichen Vollzug in der Überwachung zu gewährleisten, da im Falle von Höchstgehaltsüberschreitungen die Labore nicht mit viel Aufwand und möglicherweise rechtlich anfechtbarem Ergebnis die Abwesenheit von im Analytspektrum nicht benannten Isomeren beweisen müssten.

### 3.1.5 Expositionsschätzung

#### 3.1.5.1 Daten zu Gehalten an 1,2-ungesättigten PA in Lebensmitteln

Das BfR hat für die Gesamtbewertung der Aufnahme 1,2 ungesättigter PA über Lebensmittel Gehaltsdaten herangezogen, die vom Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL) übermittelt wurden. Diese stammen aus den Lebensmittelüberwachungsprogrammen der Bundesländer und es wird davon ausgegangen, dass somit die Gehalte der am Markt befindlichen Lebensmittel abgebildet werden. Für Milch liegen vom BVL allerdings keine Daten vor, weshalb Gehaltsdaten der EFSA herangezogen wurden.

In der früheren Stellungnahme des BfR aus dem Jahr 2016 „Pyrrolizidinalkaloide: Gehalte in Lebensmitteln sollen nach wie vor so weit wie möglich gesenkt werden; Stellungnahme Nr. 030/2016 des BfR vom 28. September 2016“ wurden Gehaltsdaten für den Zeitraum 2011 bis 2015 berücksichtigt. Die vorliegende Gesamtbewertung ist eine Aktualisierung. Die im Rahmen dieser Stellungnahme berücksichtigten Gehaltsdaten schließen daher an den früheren Datensatz an und decken den Zeitraum von 2015 bis Mitte 2019 ab. Für die nachfolgenden Betrachtungen wurden aus dem übermittelten Datenpool die Proben, die als Beschwerdeproben, Planproben aus dem Nationalen Rückstandskontrollplan (NRKP) oder Importproben, Verdachts- oder Verfolgsproben gezogen wurden sowie sonstige Probenahme- und Mitteilungsgründe hatten, ausgeschlossen. Bei den Analyseergebnissen der Einzelanalyten wurden die Messwerte unter der Bestimmungs- und Nachweisgrenze (NWG) mittels des modifizierten lower bound-Ansatzes angepasst. Dafür wurden jene Messwerte unter der NWG auf „null“ und die unter der Bestimmungsgrenze (BG) auf die NWG gesetzt.

Für die einzelnen Proben wurde jeweils die Summe aus 21 Analyten (Tabelle 1) gebildet. Dabei ist zu beachten, dass einige der Einzelanalyten bereits die Summe mehrerer einzelner Isomere widerspiegeln. In die weitere Auswertung wurden von den Daten des BVL nur die Proben aufgenommen, für die Analyseergebnisse für alle 21 Analyten vorlagen. Zur Begründung siehe auch Kapitel 3.1.4.3.

Gehaltsdaten lagen für folgende Lebensmittel vor, die zu entsprechenden Gruppen zusammengefasst wurden: Honig, verschiedene Teesorten, Mischungen teeähnlicher Erzeugnisse, Kräuter/Gewürze, Mehl, Blütenpollen, NEM, Rucola sowie Spinat, wobei sich die Gehalte für Tee und teeähnliche Erzeugnisse nicht auf den Teeaufguss sondern auf die Trockenmasse beziehen. Für Milch wurden wie in der früheren Stellungnahme aus dem Jahr 2016 die Gehaltsdaten der EFSA (Mulder et al. 2015) herangezogen. Das umfasst Daten zu 182 Proben, bei denen zwischen Januar 2014 und April 2015 35 Einzelanalyten gemessen wurden. Davon lagen die Summengehalte von 171 Proben unter der NWG. In Tabelle 2 werden die Daten zu Gehalten an 1,2 ungesättigten PA (Summe aus 21 Analyten einschließlich co-eluierender Isomere) für die verschiedenen Lebensmittelgruppen mit den entsprechenden statistischen Kennzahlen aufgelistet.

**Tabelle 2:** Für die Expositionsschätzung herangezogene Daten zu Gehalten an 1,2-ungesättigten PA (Summe aus 21 Analyten einschließlich co-eluierender Isomere) nach modifiziertem lower bound-Ansatz.

Lebensmittel	N <sup>1</sup>	< NWG <sup>2</sup> [%]	MW <sup>3</sup> [µg/kg]	Median [µg/kg]	P95 <sup>4</sup> [µg/kg]
Honig	244	56	3,0	0	17,6
Brennnesseltee	6	17	57,0	23,7	230,5
Fencheltee	101	57	6,6	0	22,2
Früchtetee	24	75	1,5	0	4,9
Grüner Tee	98	64	8,0	0	37,1
Kamillentee	84	32	29,3	8,7	119,8
Kräutertee (nns <sup>5</sup> )	229	27	97,4	15,0	409,7
Pfefferminztee	122	53	33,5	0	105,3
Rooibostee	175	11	107,1	38,0	493,5
Schwarztee	111	45	11,9	1,0	65,1
Eistee	13	92	0,1	0	1,0
Mischungen teeähnlicher Erzeugnisse	69	38	29,3	2,5	133,9
Teerzeugnisse für Säuglinge und Kleinkinder	28	43	37,0	0,9	91,7
Gewürze	327	34	2.905,7	53,3	10.871,1
Mehl	19	95	0,04	0	0,74
Milch <sup>6</sup>	182	94	0,01	0	0,04
Blütenpollen	18	6	720,7	124,5	5.083,1
Nahrungsergänzungsmittel	61	44	39,3	0,3	124,7
Rucola	17	76	9.790,7	0	166.384,0
Spinat	30	50	2,4	0,1	9,7

<sup>1</sup>N = Probenzahl (Gehaltsdaten aus den Lebensmittelüberwachungsprogrammen der Länder, 2015-Mitte 2019); <sup>2</sup>NWG = Nachweisgrenze; <sup>3</sup>MW = Mittelwert; <sup>4</sup>P95 = 95. Perzentil; <sup>5</sup>nns = nicht näher spezifiziert; <sup>6</sup>Gehaltsdaten der EFSA (Mulder *et al.* 2015)

Die Lebensmittelgruppen Rucola, Kräuter/ Gewürze, Blütenpollen, Rooibostee und Kräutertee (nns<sup>2</sup>) weisen die höchsten mittleren Gehalte auf. Für Brennnesseltee, Eistee, Mehl, Blütenpollen und Rucola liegen weniger als 20 Proben vor, woraus sich ergibt, dass das 95. Perzentil mit dem Maximum übereinstimmt und damit einhergehenden höheren Unsicherheiten unterliegt.

Die in Tabelle 3 dargestellte Gegenüberstellung der in der vorliegenden Stellungnahme herangezogenen Gehaltsdaten aus den Jahren 2015 bis 2019 mit denen in der Stellungnahme Nr. 030/2016 vom 28.09.2016 verwendeten Daten aus den Jahren 2011 bis 2015 zeigt, dass sowohl die mittleren Gehalte als auch die Gehalte im 95. Perzentil zum Teil deutlich verringert werden konnten. Besonders hervorzuheben ist die Abnahme des mittleren Gehalts um mehr als Faktor zehn bei Grünem Tee, Pfefferminztee und Schwarzem Tee. Bei Kamillentee, Kräutertee und Rooibostee ist eine Abnahme um mehr als Faktor zwei zu beobachten. Eine Ausnahme bilden Kräuter/Gewürze mit wesentlich höheren mittleren Gehalten, wobei für Kräuter/Gewürze im Vergleich zu den anderen betrachteten Lebensmittelgruppen auch das 95. Perzentil höher liegt. Der Vergleich der beiden Datenstände zeigt, dass die Probenzahl

<sup>2</sup>nns: nicht näher spezifiziert, d. h. Kräutertee ohne Kenntnisse über Art der Kräuter

für Kräuter/Gewürze von 40 auf 327 angestiegen ist, wobei Borretsch im früheren Datensatz gar nicht vertreten war und sich die Probenzahl für Oregano, Liebstöckel und Gewürzmischungen als Kräuter/ Gewürze mit einem großen Anteil hoher Gehalte stark erhöht hat. Aufgrund der deutlichen Unterschiede in den Datensätzen lässt sich aus den aktuell höheren Gehalten nicht ableiten, in welcher Weise sich die Gehalte in der Gruppe Kräuter/Gewürze in den letzten Jahren entwickelt haben. Auch bei Teerzeugnissen für Säuglinge und Kleinkinder ist anzumerken, dass beim aktuellen Stand andere Produkte beprobt wurden als zum früheren Zeitpunkt, es sich also um eine unterschiedliche Datenbasis handelt. Aus diesem Grund lässt sich aus den aktuell geringeren Gehalten nicht ableiten, in welcher Weise sich die Gehalte in den letzten Jahren entwickelt haben.

Anzumerken ist allerdings das unterschiedliche Vorgehen bei der Auswahl der Proben, die in die Datenanalyse einbezogen wurden. In der Stellungnahme Nr. 030/2016 gingen alle Proben ein, in denen mindestens 17 der 1,2-ungesättigten PA untersucht wurden, es mussten nicht notwendigerweise die gleichen Analyten sein. In der vorliegenden Betrachtung wurden nur Proben mit Analyseergebnissen für alle 21 in Tabelle 1 aufgeführten Einzelsubstanzen aufgenommen.

**Tabelle 3:** Gegenüberstellung der aktuellen Gehalte an 1,2-ungesättigten PA (Summe aus 21 Analyten einschließlich co-eluierender Isomere) mit denen der in der Stellungnahme Nr. 030/2016 vom 28.09.2016 verwendeten Gehalten (Summe aus mindestens 17 beliebigen 1,2-ungesättigten PA) in µg/kg.

Lebensmittelgruppe	aktuelle Gehalte			Gehalte in 030/2016		
	N <sup>1</sup>	Mittelwert	95. Perzentil	N <sup>2</sup>	Mittelwert	95. Perzentil
Honig	244	3,0	17,6	129	11,0	40,2
Brennnesseltee	6	57,0	230,5	27	272,3	857,1
Fencheltee	101	6,6	22,2	44	53,4	222,0
Früchtetee	24	1,5	4,9	14	1,8	7,6
Grüner Tee	98	8,0	37,1	26	423,0	1.471,5
Kamillentee	84	29,3	119,8	35	272,4	1.192,4
Kräutertee (nns <sup>3</sup> )	229	97,4	409,7	20	437,1	1.800,4
Pfefferminztee	122	33,5	105,3	30	494,3	2.990,0
Rooibostee	175	107,1	493,5	22	596,8	1.672,0
Schwarztee	111	11,9	65,1	33	571,2	3.620,4
Teerzeugnisse für Säuglinge und Kleinkinder	28	37,0	91,7	15	0,3	3,1
Gewürze	327	2.905,7	10.871,1	40	265,2	1.857,5

<sup>1</sup>N = Probenzahl (Gehaltsdaten aus den Lebensmittelüberwachungsprogrammen der Länder, 2015-Mitte 2019);

<sup>2</sup>N = Probenzahl (Gehaltsdaten aus der Stellungnahme Nr. 030/2016 des BfR); <sup>3</sup>nns = nicht näher spezifiziert

### 3.1.5.2 Verzehrdaten

Als Datengrundlage zum Verzehr für Kinder unter 5 Jahren wurden Verzehrdaten aus der VELS-Studie 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. Dabei ist allerdings zu beachten, dass 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 berücksichtigen sind. Bei der Auswertung wurde der kurzfristige und langfristige Verzehr der Kinder, die nicht mehr gestillt wurden, betrachtet. Als Grundlage für die Expositionsschätzung standen Gehaltsdaten für Honig, Fencheltee, Früchtetee, Grünen Tee, Kamillentee, Kräutertee (nns), Pfefferminztee, Rooibostee, Eistee, Tee mit Saft<sup>3</sup>, Milch und Spinat zur Verfügung. Aufgrund der wenigen Verzehrer von Brennnesseltee wurden diese mit den Verzeichern von Kräutertee (nns) zusammengefasst und bei der Expositionsschätzung mit den Gehaltsdaten von Kräutertee (nns) verknüpft.

Als Datengrundlage hinsichtlich des Verzehrs bei Jugendlichen und Erwachsenen diente die Nationale Verzehrstudie 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 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. Bei der Auswertung wurde der kurzfristige (akute) und der langfristige (chronische) Verzehr der in Tabelle 2 aufgeführten Lebensmittel betrachtet. In den Daten der NVS II der *24h-Recalls* wurde der Verzehr von Brennnesseltee, Fencheltee, Kamillentee und Pfefferminztee nicht explizit genannt. Es liegt aber die Vermutung nahe, dass die Verzehrsmengen dieser Teesorten in denen von Kräutertee (nns) enthalten sind. Grundlage für die Expositionsschätzung waren demnach Verzehrdaten für Honig, Früchtetee, Grünen Tee, Kräutertee (nns), Rooibostee, Schwarzen Tee, Eistee, Milch und Spinat. Darüber hinaus wurde noch die Aufnahme 1,2-ungesättigter PA über Kräuter/Gewürze, Borretsch/„Frankfurter Grüner Soße“, Oregano, Liebstöckel, Petersilie Blattgewürz, Rucola, NEM und Mehl in separaten Szenarien für Erwachsene betrachtet.

Für die Verzehrdaten von Rucola wurde eine vom BfR im Jahr 2009 durchgeführte telefonische Verbraucherbefragung herangezogen, da zu dem Verzehr von Rucola keine Informationen aus der NVS II vorlagen. In der Befragung wurden 1.002 Personen ab einem Alter von 18 Jahren mittels eines standardisierten Fragebogens zu ihrem Verzehrverhalten von Rucola und entsprechender Gerichte sowie Lebensmittel mit Rucola befragt. Dabei wurde die mittlere monatliche und die Verzehrsmenge des Vortags erhoben.

<sup>3</sup> Für Kinder werden im Lebensmitteleinzelhandel verzehrfertige Getränke angeboten, die z. B. zu 2/3 aus Früchtetee und 1/3 aus Apfelsaft bestehen.

### 3.1.5.3 Expositionsschätzung für alle berücksichtigten Lebensmittelgruppen

Die Expositionsschätzung wurde mittels SPSS Version 21 für den kurz- und langfristigen Verzehr der entsprechenden Lebensmittelgruppen durchgeführt.

#### 3.1.5.3.1 Kurzfristige (akute) Exposition

Für die Schätzung der kurzfristigen Aufnahme 1,2-ungesättigter PA wird das 95. Perzentil der über den Befragungszeitraum individuellen höchsten Verzehrsmenge an einem einzelnen Tag zugrunde gelegt. Diese Verzehrsmenge wird mit dem 95. Perzentil der Gehalte des entsprechenden Lebensmittels multipliziert. Bei den Berechnungen wurde zudem davon ausgegangen, dass 200 ml Teeaufguss einer Trockenmasse von 2 g entsprechen. Die kurzfristige Aufnahme bezieht sich immer auf ein einzelnes Lebensmittel und nicht wie in der langfristigen Betrachtung partiell durchgeführt auf eine Gesamtaufnahme über alle einbezogenen Lebensmittel.

In den Tabellen 4 und 5 ist die kurzfristige Aufnahme durch den Verzehr der betrachteten Lebensmittel für Kinder und Erwachsene dargestellt.

**Tabelle 4:** Kurzfristige Aufnahme 1,2-ungesättigter PA bei Kindern (0,5 bis unter 5 Jahre).

Lebensmittelgruppe	Kurzfristige Aufnahme 1,2-ungesättigter PA <sup>1</sup> [µg/kg KG und Tag]
Honig	0,026
Fencheltee	0,014
Früchtetee	0,003
Grüner Tee	0,013
Kamillentee	0,077
Kräutertee (nns <sup>2</sup> )	0,164
Pfefferminztee	0,036
Rooibostee	0,137
Eistee	< 0,0005
Tee mit Saft	0,081
Milch <sup>3</sup>	0,002
Spinat	0,123

<sup>1</sup>basierend auf Gehaltsdaten aus den Lebensmittelüberwachungsprogrammen der Länder (Summe aus 21 Analyten einschließlich co-eluierender Isomere; 2015-Mitte 2019) sowie der VELLS-Studie; <sup>2</sup>nns = nicht näher spezifiziert; <sup>3</sup>Gehaltsdaten der EFSA (Mulder *et al.* 2015)



**Tabelle 5:** Kurzfristige Aufnahme 1,2-ungesättigter PA bei Jugendlichen und Erwachsenen (14 bis 80 Jahre).

Lebensmittelgruppe	Kurzfristige Aufnahme 1,2-ungesättigter PA <sup>1</sup> [µg/kg KG und Tag]
Honig	0,016
Früchtetee	0,001
Grüner Tee	0,009
Kräutertee (nns <sup>2</sup> )	0,110
Rooibostee	0,129
Schwarzer Tee	0,013
Eistee	< 0,0005
Milch <sup>3</sup>	< 0,0005
Spinat	0,025

<sup>1</sup>basierend auf Gehaltsdaten aus den Lebensmittelüberwachungsprogrammen der Länder (Summe aus 21 Analysen einschließlich co-eluierender Isomere; 2015-Mitte 2019) sowie der NVSII; <sup>2</sup>nns = nicht näher spezifiziert; <sup>3</sup>Gehaltsdaten der EFSA (Mulder *et al.* 2015)

Für alle betrachteten Lebensmittelgruppen liegt die kurzfristige Aufnahme sowohl bei Kindern als auch bei Erwachsenen unterhalb von 0,2 µg/kg KG und Tag (Tabelle 4 und 5). Die höchste kurzfristige Aufnahme an 1,2-ungesättigten PA ergibt sich für Kinder durch Verzehr von Kräutertee (0,164 µg/kg KG und Tag), gefolgt von Rooibostee (0,137 µg/kg KG und Tag) und Spinat (0,123 µg/kg KG und Tag). Bei Erwachsenen resultiert die höchste kurzfristige Aufnahme von 1,2-ungesättigten PA durch den Verzehr von Rooibostee (0,129 µg/kg KG und Tag), gefolgt von Kräutertee (nns) mit 0,110 µg/kg KG und Tag.

### 3.1.5.3.2 Langfristige (chronische) Exposition

Für die Schätzung der langfristigen Exposition wurden die mittleren Gehalte mit den Verzehrsmengen von Kindern und Erwachsenen für alle Probanden auf individueller Ebene verknüpft und die sich daraus ergebenden Aufnahmemengen berechnet. Im Weiteren wurden für jede Lebensmittelgruppe der Median (Normalverzehrer) sowie das 95. Perzentil (Vielverzehrer) der Aufnahmemengen von 1,2-ungesättigten PA berechnet (Tabelle 6 und 7). Dabei wurde angenommen, dass 200 ml Teeaufguss einer Trockenmasse von 2 g entsprechen. Mittlere Gehalte wurden verwendet, um der Tatsache Rechnung zu tragen, dass unterschiedlich stark belastete Sorten der betrachteten Lebensmittel verzehrt werden.

Die Aufnahmemengen von 1,2-ungesättigten PA sind für Kinder in Tabelle 6 und für Erwachsene in Tabelle 7 auf Basis aller Befragter (95. Perzentil) sowie auf Basis der Verzehrer (Median und 95. Perzentil) für die einzelnen Lebensmittelgruppen aufgeführt. Die Anteile von Verzehrer an der Gesamtzahl der Befragten variieren stark sowohl zwischen den einzelnen Lebensmittelgruppen als auch zwischen Kindern und Erwachsenen.

#### *Aufnahme 1,2-ungesättigter PA über einzelne Lebensmittelgruppen*

Der Anteil der Verzehrer der einzelnen Lebensmittelgruppen liegt bei den Kindern zwischen 1 % für Grünen Tee und 37 % für Früchtetee. Daraus resultiert bei der Betrachtung über alle Befragten ein Median von null. Eine Ausnahme macht Milch mit einem Verzehreranteil von 80 %.

**Tabelle 6:** Mittlere Aufnahme<sup>1</sup> (Monatsmittel) 1,2-ungesättigter PA über verschiedene Lebensmittelgruppen in µg/kg KG und Tag bei Kindern (0,5 bis unter 5 Jahre).

Lebensmittelgruppe	Anteil Verzehrer [%]	Alle Befragte 95. Perzentil <sup>3</sup>	Nur Verzehrer	
			Median <sup>2</sup>	95. Perzentil <sup>3</sup>
Honig	26	0,001	< 0,0005	0,001
Fencheltee	16	0,001	< 0,0005	0,002
Früchtetee	37	< 0,0005	< 0,0005	< 0,0005
Grüner Tee	1	0	< 0,0005	< 0,0005
Kamillentee	4	0	0,001	0,006
Kräutertee (nns <sup>4</sup> )	9	0,003	0,003	0,018
Pfefferminztee	9	0,001	0,001	0,004
Rooibostee	4	0	0,002	0,014
Eistee	4	0	< 0,0005	< 0,0005
Tee mit Saft	6	0,001	0,002	0,021
Milch <sup>5</sup>	80	< 0,0005	< 0,0005	< 0,0005
Spinat	19	0,004	0,002	0,007

<sup>1</sup>basierend auf Gehaltsdaten aus den Lebensmittelüberwachungsprogrammen der Länder (Summe aus 21 Analyten einschließlich co-eluierender Isomere; 2015-Mitte 2019) sowie der VELS-Studie; <sup>2</sup>Median = 0, wenn Anteil Verzehrer < 50 %; <sup>3</sup>95. Perzentil = 0, wenn Anteil Verzehrer < 5 %; <sup>4</sup>nns = nicht näher spezifiziert; <sup>5</sup>Gehaltsdaten der EFSA (Mulder *et al.* 2015)

Die Betrachtung der Ergebnisse für Kinder (nur Verzehrer) in Tabelle 6 zeigt, dass sich die höchste Exposition gegenüber 1,2-ungesättigte PA durch Verzehr von Kräutertee (nns), Rooibostee, Spinat bzw. Tee mit Saft ergibt. Die Verzehreranteile der genannten Gruppen liegen dabei zwischen 4 % und 19 %.

Für die Erwachsenen der NVS II kann ein Anteil der Verzehrer zwischen 4 % für Rooibostee und 22 % für Kräutertee (nns) verzeichnet werden. Dies resultiert wie bei den Kindern bei der Betrachtung über alle Befragten in einem Median von null. Auch bei den Erwachsenen bildet Milch mit einem Verzehreranteil von 55 % eine Ausnahme.

**Tabelle 7:** Mittlere Aufnahme<sup>1</sup> (Monatsmittel) 1,2-ungesättigter PA über verschiedene Lebensmittelgruppen in µg/kg KG und Tag bei Jugendlichen und Erwachsenen (14 bis 80 Jahre).

Lebensmittelgruppe	Anteil Verzehrer [%]	Alle Befragte		Nur Verzehrer	
		95. Perzentil <sup>2</sup>	Median <sup>2</sup>	95. Perzentil <sup>3</sup>	Median <sup>2</sup>
Honig	17	0,001	0,001	0,002	0,001
Früchtetee	10	< 0,0005	< 0,0005	< 0,0005	< 0,0005
Grüner Tee	6	< 0,0005	< 0,0005	0,001	< 0,0005
Kräutertee (nns <sup>4</sup> )	22	0,009	0,004	0,019	0,004
Rooibostee	4	0	0,005	0,017	0,005
Schwarzer Tee	13	0,001	< 0,0005	0,002	< 0,0005
Eistee	4	0	< 0,0005	< 0,0005	< 0,0005
Milch <sup>5</sup>	55	< 0,0005	< 0,0005	< 0,0005	< 0,0005
Spinat	5	0	0,002	0,003	0,002

<sup>1</sup>basierend auf Gehaltsdaten aus den Lebensmittelüberwachungsprogrammen der Länder (Summe aus 21 Analysen einschließlich co-eluierender Isomere; 2015-Mitte 2019) sowie der NVSII; <sup>2</sup>Median = 0, wenn Anteil Verzehrer < 50 %; <sup>3</sup>95. Perzentil = 0, wenn Anteil Verzehrer < 5 %; <sup>4</sup>nns = nicht näher spezifiziert; <sup>5</sup>Gehaltsdaten der EFSA (Mulder *et al.* 2015)

Bei der Betrachtung der einzelnen Lebensmittelgruppen für Erwachsene (nur Verzehrer) führt der Verzehr von Kräutertee (nns) und Rooibostee zur höchsten langfristigen Aufnahme 1,2-ungesättigter PA (Tabelle 7). Die Verzehreranteile dieser beiden Lebensmittelgruppen liegen bei 4 % bzw. 22 %.

#### *Gesamtaufnahme 1,2-ungesättigter PA durch Verzehr der betrachteten Lebensmittelgruppen auf Basis der Verzehrer*

Werden nur die Verzehrer der verschiedenen Lebensmittelgruppen betrachtet, wird sichtbar, dass die Anteile der Verzehrer an der Gesamtheit der Befragten stark variieren. Würde die Gesamtaufnahme so gebildet werden, dass als Verzehrer die Personen anzusehen sind, die mindestens ein Produkt aus den ausgewählten Lebensmittelgruppen verzehrt haben, würden Lebensmittel mit einem hohen Verzehreranteil aber niedrigen Gehalten an 1,2-ungesättigten PA (z. B. Milch) zu einer Unterschätzung der Aufnahme für Verzehrer von Lebensmitteln mit hohen Gehalten bei vergleichsweise geringem Verzehreranteil führen. Dies ist insbesondere deshalb problematisch, weil die Verzehreranteile in Verzehrsstudien mit wenigen Tagen systematisch unterschätzt werden. Deshalb wurden in mehreren Szenarien die Verzehrer der Lebensmittelgruppen mit den höchsten Aufnahmewerten im Median als Grundgesamtheit gewählt und für diese Verzehrergruppe die Gesamtaufnahme ermittelt. Für Kinder ergeben sich die zwei Szenarien mit der Grundgesamtheit Verzehrer von Kräutertee (nns) bzw. Rooibostee (Tabelle 8). Für Erwachsene werden ebenfalls die zwei Szenarien mit der Grundgesamtheit Verzehrer von Kräutertee (nns) bzw. Rooibostee betrachtet (Tabelle 9).

**Tabelle 8:** Mittlere Gesamtaufnahme (Monatsmittel) 1,2-ungesättigter PA über die betrachteten Lebensmittelgruppen bei Kindern<sup>1</sup> (Basis: nur Verzehrer einer Gruppe).

Basis		Gesamtaufnahme [µg/kg KG und Tag]
Verzehrer von Kräutertee (nns <sup>2</sup> )	Verzehrer (%)	9
	Median	0,005
	95. Perzentil	0,018
Verzehrer von Rooibostee	Verzehrer (%)	4
	Median	0,004
	95. Perzentil	0,021

<sup>1</sup>0,5 bis unter 5 Jahre; <sup>2</sup>nns = nicht näher spezifiziert

**Tabelle 9:** Mittlere Gesamtaufnahme (Monatsmittel) 1,2-ungesättigter PA über die betrachteten Lebensmittelgruppen bei Jugendlichen und Erwachsenen<sup>1</sup> (Basis: nur Verzehrer einer Gruppe).

Basis		Gesamtaufnahme [µg/kg KG und Tag]
Verzehrer von Kräutertee (nns <sup>2</sup> )	Verzehrer (%)	22
	Median	0,005
	95. Perzentil	0,020
Verzehrer von Rooibostee	Verzehrer (%)	4
	Median	0,006
	95. Perzentil	0,023

<sup>1</sup>14 bis 80 Jahre; <sup>2</sup>nns = nicht näher spezifiziert

### 3.1.5.3 Lebensmittel, die nicht in die Schätzung der Gesamtaufnahme einbezogen wurden

Zusätzlich zu den oben betrachteten Lebensmittelgruppen wird im Folgenden auf Lebensmittel eingegangen, die aus verschiedenen Gründen nicht in die zuvor dargestellte Expositionsschätzung aufgenommen wurden. Dies umfasst zum Beispiel Lebensmittel, die aus methodischen Gründen nicht verlässlich in Verzehrsstudien abgebildet sind jedoch u. U. durch starke Verunreinigungen mit PA-bildenden Pflanzen auffallen und demnach einen deutlichen Beitrag zur Gesamtaufnahme von 1,2-ungesättigten PA leisten können.

#### *Kräuter und Gewürze*

In die vorliegende Betrachtung wurden Gehaltsdaten von 327 Proben von Kräutern/Gewürzen einbezogen. Diese wurden dem vom BVL übermittelten Datensatz (Zeitraum 2015 bis 2019) entnommen. Die Streuung der Gehalte erstreckt sich über einen Bereich zwischen <NWG bis 248.061 µg/kg. In Tabelle 10 wurden die Gehalte in geringe, mittlere, hohe und sehr hohe Gehalte gruppiert.

**Tabelle 10:** Verteilung der Gehalte an 1,2-ungesättigten PA (Summe aus 21 Analyten einschließlich co-eluierender Isomere) in Kräutern/Gewürzen über verschiedene Gehaltsbereiche.

Gehaltsbereiche [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]	Probenzahl	Häufigkeit [%]
gering (< NWG - 500)	218	67
mittel (500 - 2.000)	44	13
hoch (2.000 - 4.000)	25	8
sehr hoch (> 4.000)	40	12
gesamt	327	100

Die Gesamtschau der Gehaltsdaten von Kräutern/Gewürzen zeigt, dass von den 327 Proben 34 % einen Gehalt unterhalb der NWG aufweisen. Der Median hat einen Wert von  $53 \mu\text{g}/\text{kg}$ , der MW liegt bei  $2.906 \mu\text{g}/\text{kg}$  und das 95. Perzentil bei  $10.871 \mu\text{g}/\text{kg}$ . Die hohen und sehr hohen Gehalte fanden sich in Proben der Blattgewürze Borretsch, Oregano, Liebstöckel sowie in Gewürzmischungen. Ein sehr hoher Gehalt mit  $9.565 \mu\text{g}/\text{kg}$  lag in einer von 21 Proben von Thymian vor, wobei der nächstniedrigere Gehalt einen Wert von  $382 \mu\text{g}/\text{kg}$  aufwies, was dem 95. Perzentil entspricht. Ein weiterer sehr hoher Gehalt war zudem in einer Probe Kreuzkümmel zu verzeichnen, wobei hier nur Daten zu einer einzelnen Probe vorlagen. Die für die folgende modellartige Expositionsschätzung verwendeten Gehaltsdaten orientieren sich an den Mittelwerten der in der Tabelle 10 dargestellten Gehaltsbereiche. Im mittleren und hohen Bereich stimmen Mittelwert und Median der gemessenen Gehalte weitgehend überein. Für den Bereich der sehr hohen Gehalte, liegt der Mittelwert deutlich höher, aber aufgrund der Probenzahlen und der größeren Robustheit des Medians gegenüber Ausreißern wurde sich hier am Median orientiert. In der Gruppe der Kräuter mit eher geringen Gehalten wird der Mittelwert verwendet, da der Median unter der Bestimmungsgrenze liegt und damit 0 wäre. Da es sich um eine Überschlagsschätzung handelt, werden die jeweiligen Werte entsprechend Tabelle 11 gerundet.

Die Aufnahmeschätzung für die langfristige Exposition wird anhand des kumulierten Verzehrs für Kräuter (ohne Gewürze) aus den *24h-Recalls* für Normal- und Vielverzehrer betrachtet. Für Normalverzehrer ergibt sich die Aufnahme 1,2-ungesättigter PA aus dem Produkt des Medians sowie dem Mittelwert des Verzehrs mit den herangezogenen Gehalten und für Vielverzehrer aus dem Produkt des 95. Perzentil des Verzehrs und den Gehalten.

Kräuter/Gewürze wurden in der vorliegenden Gesamtbewertung separat dargestellt und nicht in die in Kapitel 3.1.5.3.2 durchgeführte Schätzung der Gesamtaufnahme einbezogen. Der Grund dafür ist einerseits die mit Unsicherheiten behaftete Datenlage zum Verzehr von Kräutern/Gewürzen. Dieser ist in Verzehrstudien oft nicht ausreichend dokumentiert, weshalb von einer Unterschätzung auszugehen ist. Andererseits lagen keine Gehaltsdaten für die gängigen Kräuter/Gewürze wie z. B. Pfeffer vor. Die Betrachtungen deuten aber darauf hin, dass Kräuter/Gewürze trotz der prinzipiell geringen Verzehrsmengen einen erheblichen Beitrag zur Aufnahme 1,2-ungesättigter PA leisten können, weshalb diese Überschlagsschätzung angestellt wurde.

**Tabelle 11:** Langfristige Aufnahme 1,2-ungesättigter PA durch den Verzehr von Kräutern/Gewürzen bei Jugendlichen und Erwachsenen (14-80 Jahre).

	Verzehrmenge von Kräutern [g/kg KG und Tag]	Herangezogener Gehalt [µg/kg]	Mittelwert Gehalt [µg/kg]	Median Gehalt [µg/kg]	Aufnahme [µg/kg KG und Tag]
<b>Erwachsene, Normalverzehrer (Median)</b>	0,011	50 (gering)	47	0	0,001
	0,011	1.000 (mittel)	1093	1101	0,011
	0,011	3.000 (hoch)	3044	3077	0,033
	0,011	10.000 (sehr hoch)	20394	9737	0,110
<b>Erwachsene, Vielverzehrer (95. Perzentil)</b>	0,087	50 (gering)	47	0	0,004
	0,087	1.000 (mittel)	1093	1101	0,087
	0,087	3.000 (hoch)	3044	3077	0,261
	0,087	10.000 (sehr hoch)	20394	9737	0,870

Im Vergleich zur Schätzung der langfristigen Exposition werden für die Schätzung der kurzfristigen Aufnahme nicht die Verzehrsmengen aus den *24h-Recalls* der NVS II zugrunde gelegt. Stattdessen wurden Verzehrsmengen anhand von ausgewählten Rezepten definiert, in denen üblicherweise bestimmte Kräuter/Gewürze verwendet werden. Normalerweise wird für die Berechnung der akuten Exposition auf individueller Ebene das Maximum der beiden Verzehrstage aus den *24h-Recalls* gebildet und dann das 95. Perzentil der Verzehrsmengen der Verzehrer ermittelt. Die kumulierten Verzehrsmengen, die bspw. für die Schätzung der langfristigen Exposition verwendet wurden, würden den Verzehr von Kräutern/Gewürzen insgesamt widerspiegeln. Die Berücksichtigung einer ganzen Gruppe ist für die Schätzung der akuten Exposition aber unüblich. Es würde dadurch ein Szenario entstehen, bei dem alle Kräuter/Gewürze, die an einem Tag verzehrt werden, als hochbelastet angenommen werden. Diese Annahme wäre sehr unrealistisch. Eine Abbildung von Einzelfällen könnte weiterhin nicht gewährleistet werden. Des Weiteren könnte selbst durch Aggregation der Verzehrsmengen für Kräuter/Gewürze gesamt nicht auf die verwendete Verzehrsmenge von z. B. Borretsch geschlossen werden, da Borretsch in den Verzehrserhebungen nicht explizit benannt bzw. ausgewiesen ist.

Vor dem beschriebenen Hintergrund werden für die Schätzung der akuten Exposition Szenarien angenommen, bei denen die Aufnahme 1,2-ungesättigter PA durch Verzehr bestimmter kräuterhaltiger Gerichte geschätzt wird. Aufgrund hoher Gehalte wurden beispielhaft die Gewürze Borretsch, Oregano, Liebstöckel und Petersilie Blattgewürz (getrocknet) herangezogen. Die Rezeptauswahl für die Gerichte erfolgte anhand einer durchgeführten Verbraucherbefragung zu den meist verwendeten Informationsquellen für Kochrezepte. Für die Rezepte wurden die Mengen für die eingesetzten Kräuter aus einschlägigen Kochbüchern, sowie aus den Rezepten von Internetseiten verglichen und durch ausgebildete Köche plausibilisiert. Im Zweifelsfall wurde ein konservativerer Ansatz verwendet und die höheren Mengen an empfohlener Kräuterbeigabe gewählt.

### **Szenario 1 „Borretsch“**

Quelle: <https://www.chefkoch.de/rezepte/1021661207383908/Frankfurter-Gruene-Sosse.html>, meiste Klicks, beste Bewertung)

Rezept: „Frankfurter Grüne Soße“

Die Kräutermischung besteht oft aus 25 g Schnittlauch, 25 g Petersilie, 25 g Kerbel, 25 g Kresse, 25 g Sauerampfer, 25 g Borretsch, 10 g Estragon, 10 g Dill, 10 g Bohnenkraut.

*Für die Schätzung der kurzfristigen Exposition wird ein Verzehr von 25 g Borretsch sowie 155 g weiterer Kräuter als Zusammenfassung der Bestandteile der Kräutermischung ohne Borretsch zugrunde gelegt. Eine Gehaltsbetrachtung der einzelnen Kräuter ist wegen fehlender oder unzureichender Probenzahlen nicht möglich.*

### **Szenario 2 „Oregano“**

Quelle: Schulkochbuch Jubiläumsausgabe, Dr. Oetker (Oetker 2011)

Rezept: „Tomatensauce“

1 EL gehackter Oregano

*Für die Schätzung der kurzfristigen Exposition wird ein Verzehr von 2 g Oregano zugrunde gelegt.*

### **Szenario 3 „Liebstöckel und Petersilie Blattgewürz“**

Quelle: Schulkochbuch Jubiläumsausgabe, Dr. Oetker (Oetker 2011)

Rezept: „Pichelsteiner-Eintopf“

Gerebelte Liebstöckel  
2 EL gehackte Petersilie

*Für die Schätzung der kurzfristigen Exposition wird ein Verzehr von 2 g Liebstöckel und 4 g getrockneter Petersilie (höhere Gehalte in getrockneter Petersilie - konservativer Ansatz) zugrunde gelegt.*

Die für die Schätzung der akuten Exposition herangezogenen Verzehrsmengen ergeben sich aus den oben dargestellten Mengen bezogen auf ein Standard-Körpergewicht von 70 kg für einen Erwachsenen (EFSA 2012). Um dem Umstand Rechnung zu tragen, dass ein Gericht mit der oben dargestellten verwendeten Kräutermenge rund drei Portionen ergibt und nur ein Teil in einer Mahlzeit oder über mehrere Mahlzeiten verteilt verzehrt wird, wird bei der akuten Schätzung davon ausgegangen, dass eine Person nur ein Drittel der Gesamtmenge, d. h. eine einzelne Portion, verzehrt.

**Tabelle 12:** Kurzfristige Exposition gegenüber 1,2-ungesättigten PA durch den Verzehr von Gerichten mit Kräutern.

		Verzehrmenge Kräuter [g/kg KG und Tag]	Gehalt (P95) [µg/kg]	Aufnahme [µg/kg KG und Tag]
Szenario 1	Borretsch	0,119	248.061	29,53
	weitere Kräuter	0,738	155 <sup>1</sup>	0,11
Szenario 2	Oregano	0,010	18.772	0,18
Szenario 3	Liebstockel + Petersilie Blattgewürz	0,029	7.487	0,08

<sup>1</sup> mittlerer Gehalt weiterer Kräuter

Aus den vorliegenden Gehaltsdaten des BVL lässt sich nicht eindeutig entnehmen, ob sich die gemessenen Gehalte auf getrocknete oder frische Kräuter beziehen. In Szenario 1 ergibt sich unter der Annahme, dass sich die Gehaltsdaten auf frische Kräuter beziehen, durch Verzehr von „Frankfurter Grüner Soße“ eine Aufnahme von 29,64 µg/kg KG und Tag (Tabelle 12). Bezögen sich die Gehaltsdaten auf getrocknete Ware, ergäbe sich bei Berücksichtigung eines Trocknungsfaktors von 4 eine Aufnahmemenge von rund 8 µg/kg KG und Tag. Der Verzehr von einer mit Oregano gewürzten Tomatensauce in Szenario 2 führt zu einer möglichen Aufnahme von 0,18 µg/kg KG und Tag. Der Verzehr von „Pichelsteiner“-Eintopf führt in Szenario 3 zu einer möglichen Aufnahme von 0,08 µg/kg KG und Tag.

### Rucola

Wie in Kapitel 3.1.5.2 beschrieben, wurden als Verzehrdaten für Rucola die Daten aus einer vom BfR durchgeführten telefonischen Verbraucherbefragung herangezogen, da zum Verzehr von Rucola keine Informationen aus der NVS II vorlagen. Von den rund 1.000 Befragten waren 40 % Verzehrer von Rucola. Von den 17 Gehaltsproben zu Rucola lagen vier über der Nachweisgrenze (0,28 µg/kg; 26,5 µg/kg, 31,9 µg/kg und 166.384 µg/kg). Der mittlere Gehalt (*lower bound*) an PA belief sich auf 9.790 µg/kg und das 95. Perzentil bzw. Maximum lag bei 166.384 µg/kg.

Die Betrachtung des kurzfristigen Verzehrs ergibt für Erwachsene eine Aufnahme von 175,2 µg/kg KG und Tag bei Berücksichtigung der Gehalte im 95. Perzentil bzw. des maximalen Gehalts. Bei einer Betrachtung ohne den maximalen Wert würde die PA-Aufnahme durch Rucola unter 0,0005 µg/kg KG und Tag liegen. Für den mittleren langfristigen Verzehr ergibt die Aufnahmeschätzung für Erwachsene eine Aufnahme 1,2-ungesättigter PA von 0,34 µg/kg KG und Tag. Die Betrachtung ohne den maximalen Wert würde hingegen in einer Aufnahme von unter 0,0005 µg/kg KG und Tag resultieren.



### *Nahrungsergänzungsmittel*

Bereits in einer früheren Stellungnahme sind NEM durch hohe Gehalte an 1,2-ungesättigten PA aufgefallen. Die höchsten Konzentrationen wurden in botanischen NEM mit Pflanzenmaterial aus PA-Bildnern gefunden (BfR 2016b).

In den aktuell vom BVL übermittelten Daten konnten zu 61 NEM Gehaltsdaten ausgewertet werden. Es lagen Gehalte für „NEM nicht näher spezifiziert“, Gelee-Royal-Präparate, Pflanzenextrakte sekundärer Pflanzeninhaltsstoffe (SPS), Vitamin-, Pollen-, Mineralstoff- und Mariendistelölpräparate vor. In den ölbasieren Präparaten konnten keine PA nachgewiesen werden. Aufnahmemengen an 1,2-ungesättigten PA konnten insbesondere wegen fehlender Angaben zu den vom Hersteller empfohlenen Verzehrsmengen für die Präparate nicht abgeschätzt werden.

### *Mehl*

Für die Lebensmittelgruppe Mehl wurden 19 Proben zu verschiedenen Mehlen (Dinkel, Roggen, Weizen) ausgewertet. Dabei lagen die Werte bei 18 Proben unter der NWG und wurden dementsprechend auf null gesetzt. Der einzige messbare Gehalt fand sich in einer Probe Roggenmehl. Aufgrund der geringen Probenanzahl war keine statistische Auswertung für einzelne Mehlsorten möglich. Aufgrund der Vielfältigkeit der Lebensmittel, in denen Mehle unterschiedlichster Art verarbeitet werden, erscheint ein Beitrag von Mehl zur Gesamtaufnahme 1,2-ungesättigter PA möglich. Daher ist es wichtig, in der Zukunft belastbare Daten zu Gehalten an 1,2-ungesättigten PA in Mehl zu erheben. Ein entsprechendes Projektmonitoring ist für das Jahr 2020 geplant. In diesem sind die teilnehmenden Labore angehalten, neben der verpflichtenden Analyse von Mehl auf Tropanalkaloide auch die Gehalte an 1,2-ungesättigten PA mit zu untersuchen.

### *Weitere nicht betrachtete Lebensmittelgruppen*

In der Expositionsschätzung wurden die Lebensmittelgruppen Blütenpollen und Mischungen teeähnlicher Erzeugnisse nicht berücksichtigt, da für diese keine Verzehrdaten vorlagen. Weiterhin konnte für 41 Proben keine Zuordnung zu bestimmten Lebensmittelgruppen und dementsprechend auch keine Verknüpfung zu Verzehrdaten vorgenommen werden.

In der Stellungnahme des BfR aus dem Jahr 2016 wurden zudem folgende Lebensmittelgruppen untersucht, in denen keine 1,2-ungesättigten PA gefunden wurden: Joghurt (27 Proben), Käse (Gouda/Emmentaler, Brie/Camembert) (34 Proben), Säuglingsanfangsnahrung (Milchpulver 0-6 Monate) (8 Proben), Folgenahrung (Milchpulver 6-36 Monate) (17 Proben), Rindfleisch (80 Proben), Schweinefleisch (79 Proben), Geflügelfleisch (83 Proben), Rinderleber (11 Proben), Schweineleber (10 Proben), Hühnerleber (10 Proben). Darüber hinaus wurden 205 Proben Eier untersucht, von denen alle bis auf zwei Proben keine 1,2-ungesättigten PA enthielten. Zu Senf lagen acht Proben vor, wobei die Analyten alle unterhalb der Bestimmungsgrenze lagen (BfR 2016b). Diese Lebensmittel wurden in die Expositionsschätzung im Rahmen der aktuellen Stellungnahme nicht einbezogen.

### 3.1.6 Risikocharakterisierung

#### 3.1.6.1 Bewertungsansatz des BfR

Aus toxikologischer Sicht lassen sich für genotoxisch-karzinogene wirkende Verbindungen nach derzeitigem Kenntnisstand keine Aufnahmemengen ableiten, bis zu denen gesundheitliche Risiken mit hinreichender Sicherheit ausgeschlossen werden können. Die genotoxisch-karzinogenen Wirkungen sind daher der sensitivste Endpunkt und stehen bei der Risikobewertung 1,2-ungesättigter PA im Vordergrund.

Zur Priorisierung der Dringlichkeit von Risikomanagementmaßnahmen wird in der Europäischen Union 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. Für karzinogene Verbindungen wird üblicherweise das BMDL<sub>10</sub> als Referenzpunkt herangezogen. Das BMDL<sub>10</sub> wird durch Modellierung geeigneter Daten zur Dosis-Wirkungs-Beziehung ermittelt und entspricht der unteren Grenze des Konfidenzintervalls der Dosis, die im Falle der 1,2-ungesättigten PA in tierexperimentellen Untersuchungen mit einem zusätzlichen Krebsrisiko von 10 % (*benchmark dose 10 %*, BMD<sub>10</sub>) gegenüber der Kontrollgruppe assoziiert ist. In der Regel wird für genotoxische Karzinogene 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 Risikobewertung der 1,2-ungesättigten PA wurden stellvertretend für alle Derivate die in Kapitel 3.1.3.1.2 näher beschriebenen chronischen Toxizitätsstudien mit Lasiocarpin (NCI 1978) und Riddelliin (NTP 2003) als Datenbasis herangezogen. In beiden Studien wurde das Auftreten von hepatischen Hämangiosarkomen bei der Ratte als sensitivster Endpunkt identifiziert. Das BfR berücksichtigt im Rahmen der vorliegenden Risikobewertung für die Berechnung von MOE-Werten den im Jahr 2017 von der EFSA auf Basis der Riddelliin-Studie abgeleiteten (EFSA 2017b) BMDL<sub>10</sub> von 237 µg/kg KG und Tag als Referenzpunkt.

Wie bereits in Kapitel 3.1.3.4 beschrieben, wird seit einiger Zeit zunehmend diskutiert, in welcher Weise die unterschiedliche karzinogene Potenz einzelner 1,2-ungesättigter PA und ihrer *N*-Oxide besser berücksichtigt werden könnte. Aus Sicht des BfR können die auf Basis der gegenwärtig verfügbaren Daten abgeleiteten Potenzfaktoren für eine belastbare Risikobewertung allerdings noch nicht herangezogen werden. Es wird daher weiterhin für die Risikobewertung eine Äquipotenz der verschiedenen 1,2-ungesättigten PA angenommen.

Im Hinblick auf die nicht-karzinogenen Risiken durch 1,2-ungesättigte PA liegen, wie im Kapitel 3.1.3.1.1 dargestellt, für den Menschen verschiedene Fallbeschreibungen von Vergiftungen nach Aufnahme PA-haltigen Pflanzenmaterials vor. Aus den zwei relativ gut dokumentierten Vergiftungsfällen bei Kindern ergibt sich, dass tägliche Aufnahmemengen von etwa 1-3 mg/kg KG bereits nach wenigen Tagen zu schweren Schädigungen der Leber bzw. sogar zu letalen Vergiftungen führen können. Dieser Dosisbereich kennzeichnet somit Aufnahmemengen, bei denen mit dem Auftreten schwerer Wirkungen gerechnet werden muss. Eine Aufnahmemenge, bis zu der toxische Wirkungen nach kurzfristiger Aufnahme 1,2-ungesättigter PA nicht mehr zu erwarten sind, lässt sich auf dieser Datenbasis allerdings aufgrund der fehlenden Erkenntnisse zum Dosis-Wirkungs-Verlauf nicht ableiten. In älteren Gutachten der WHO wurde angenommen, dass bereits eine Aufnahme von 10 µg/kg KG und Tag an 1,2-ungesättigten PA zu Erkrankungen beim Menschen führten dürfte (IPCS/INCHEM 1988).

Allerdings ist die dieser Aussage zugrunde liegende Datenlage mit großen Unsicherheiten behaftet. Insgesamt kann daher – auch unter Berücksichtigung neuerer Fallberichte und neuerer Bewertungsansätze – nicht belastbar abgeleitet werden, ab welchen Aufnahmemengen beim Menschen mit dem Auftreten nicht-karzinogener adverser Wirkungen nach kurz-, mittel- bzw. langfristiger Exposition gerechnet werden muss.

In den Bewertungen mehrerer wissenschaftlicher Gremien wurde allerdings das Auftreten von Hepatozytenvergrößerungen, das u. a. in der chronischen Studie mit Riddelliin bei Ratten beobachtet wurde, als ein relevanter Endpunkt zur Beurteilung der nicht-karzinogenen Wirkungen angesehen. Es wurde ein NOAEL von 10 µg/kg KG und Tag identifiziert. Unter Berücksichtigung eines Extrapolationsfaktors von 100 zur Berücksichtigung von Inter- und Intraspeziesdifferenzen, wurde eine Aufnahmemenge von 0,1 µg/kg KG und Tag abgeleitet, bei deren Unterschreitung nicht-karzinogene Wirkungen durch 1,2-ungesättigte PA nicht mehr zu erwarten sind (COT 2008; BfR 2016b). Dieser Wert kann aus Sicht des BfR in begründeten Einzelfällen hilfsweise zur Beurteilung der nicht-karzinogenen Risiken herangezogen werden. Danach wäre bei einer Exposition gegenüber 1,2-ungesättigten PA von bis zu 0,1 µg/kg KG und Tag nicht mit dem Auftreten von entsprechenden Wirkungen zu rechnen. Da dieser Wert auf Basis einer chronischen Studie abgeleitet wurde, ist davon auszugehen, dass der Wert sowohl hinsichtlich des Auftretens von nicht-karzinogenen Wirkungen nach langfristigem als auch nach kurz- und mittelfristigem Verzehr als protektiv angesehen werden kann. Die Anwendung dieses Orientierungswertes zur Beurteilung möglicher Effekte nach kurz- und mittelfristiger Exposition ist als konservativ anzusehen.

Insgesamt ist zu beachten, dass im Hinblick auf eine umfassende Risikobewertung immer die genotoxisch-karzinogenen Wirkungen als sensitivster Endpunkt zu berücksichtigen sind.

### 3.1.6.2 Bewertung gesundheitlicher Risiken bei kurzfristiger Aufnahme 1,2-ungesättigter PA

Im Rahmen der vorliegenden Gesamtbewertung konnte für Kinder der Altersgruppe 0,5 bis unter 5 Jahre eine belastbare Schätzung der kurzfristigen Exposition gegenüber 1,2-ungesättigten PA für die Lebensmittelgruppen Honig, Fencheltee, Früchtetee, Grüner Tee, Kamillentee, Kräutertee (nns), Pfefferminztee, Rooibostee, Eistee, Tee mit Saft, Milch und Spinat durchgeführt werden. Für Erwachsene war die Schätzung der kurzfristigen Exposition für die Lebensmittelgruppen Honig, Früchtetee, Grüner Tee, Kräutertee (nns), Rooibostee, Schwarzer Tee, Eistee, Milch und Spinat möglich.

Die höchste kurzfristige Exposition gegenüber 1,2-ungesättigten PA ergibt sich für Kinder (nur Verzehrer) durch Verzehr von Kräutertee (0,164 µg/kg KG und Tag), gefolgt von Rooibostee (0,137 µg/kg KG und Tag) und Spinat (0,123 µg/kg KG und Tag). Bei Erwachsenen (nur Verzehrer) resultiert die höchste kurzfristige Aufnahme von 1,2-ungesättigten PA durch Verzehr von Rooibostee (0,129 µg/kg KG und Tag), gefolgt von Kräutertee (nns) mit 0,110 µg/kg KG und Tag.

Das BfR hatte in begründeten Einzelfällen hilfsweise einen Orientierungswert zur Beurteilung der nicht-karzinogenen Risiken herangezogen. Danach wäre bei einer Exposition gegenüber 1,2-ungesättigten PA von bis zu 0,1 µg/kg KG und Tag nicht mit dem Auftreten von entsprechenden Wirkungen zu rechnen. Da dieser Wert auf Basis einer chronischen Studie abgeleitet wurde, ist davon auszugehen, dass der Wert sowohl hinsichtlich des Auftretens von nicht-karzinogenen Wirkungen nach langfristigem als auch nach kurz- und mittelfristigem Verzehr als protektiv angesehen werden kann. Die hier ermittelte kurzfristige Aufnahme über einzelne Lebensmittelgruppen übersteigt den hilfsweise herangezogenen Orientierungswert

geringfügig. Allerdings ist dieser Orientierungswert aufgrund der Ableitung auf Basis einer chronischen Studie als konservativ anzusehen.

Bei allen anderen betrachteten Lebensmittelgruppen lagen die geschätzten Aufnahmemengen – zum Teil deutlich – unterhalb des Orientierungswerts von 0,1 µg/kg KG und Tag.

### 3.1.6.3 Bewertung gesundheitlicher Risiken bei langfristiger Aufnahme 1,2-ungesättigter PA über alle berücksichtigten Lebensmittelgruppen

Im Rahmen der durchgeführten Expositionsschätzung wurden zuerst die Aufnahmemengen über die einzelnen betrachteten Lebensmittelgruppen (Kinder: Honig, Fencheltee, Früchtetee, Grüner Tee, Kamillentee, Kräutertee (nns), Pfefferminztee, Rooibostee, Eistee, Tee mit Saft, Milch und Spinat; Erwachsene: Honig, Früchtetee, Grüner Tee, Kräutertee (nns), Rooibostee, Schwarzer Tee, Eistee, Milch, Spinat) geschätzt. Bei Kindern (Vielverzehrer) ergab sich die höchste Exposition durch Verzehr von Kräutertee (nns), Rooibostee und Tee mit Saft; bei Erwachsenen (Vielverzehrer) resultierten die höchsten Aufnahmemengen durch Verzehr von Kräutertee (nns) und Rooibostee. Die Aufnahmemengen über einzelne Lebensmittelgruppen lagen dabei alle jeweils unter 0,0237 µg/kg KG und Tag und entsprechen daher MOE-Werten von über 10.000.

Für die Beurteilung möglicher gesundheitlicher Risiken nach langfristiger Exposition gegenüber 1,2-ungesättigten PA muss aber die Gesamtaufnahme über alle relevanten Lebensmittelgruppen berücksichtigt werden. Im Rahmen der durchgeführten Expositionsschätzung wurden daher in mehreren Szenarien die Verzehrer der Lebensmittelgruppen mit den höchsten Aufnahmewerten als Grundgesamtheit gewählt und für diese Verzehrergruppen jeweils die Gesamtaufnahme ermittelt. Für Kinder ergeben sich somit die zwei Szenarien mit der Grundgesamtheit Verzehrer von Kräutertee (nns) bzw. Rooibostee. Für Erwachsene werden ebenfalls die zwei Szenarien mit der Grundgesamtheit Verzehrer von Kräutertee (nns) bzw. Rooibostee betrachtet.

**Tabelle 13:** Mittlere Gesamtaufnahme (Monatsmittel) 1,2-ungesättigter PA über die betrachteten Lebensmittelgruppen und daraus resultierende MOE-Werte bei Kindern<sup>1</sup> (Basis: nur Verzehrer einer Gruppe).

Basis		Gesamtaufnahme [µg/kg KG und Tag]	MOE <sup>2</sup>
Verzehrer von Kräutertee (nns <sup>3</sup> )	Verzehrer (%)	9	
	Median	0,005	<b>47.365</b>
	95. Perzentil	0,018	<b>13.388</b>
Verzehrer von Rooibostee	Verzehrer (%)	4	
	Median	0,004	<b>59.643</b>
	95. Perzentil	0,021	<b>11.275</b>

<sup>1</sup>0,5 bis unter 5 Jahre; <sup>2</sup>BMDL<sub>10</sub> = 237 µg/kg KG und Tag (EFSA 2017b), Berechnung aus tatsächlicher Aufnahme (nicht gerundet); <sup>3</sup>nns = nicht näher spezifiziert

**Tabelle 14:** Mittlere Gesamtaufnahme (Monatsmittel) 1,2-ungesättigter PA über die betrachteten Lebensmittelgruppen und daraus resultierende MOE-Werte bei Jugendlichen und Erwachsenen<sup>1</sup> (Basis: nur Verzehrer einer Gruppe).

Basis		Gesamtaufnahme [µg/kg KG und Tag]	MOE <sup>2</sup>
Verzehrer von Kräutertee (nns <sup>3</sup> )	Verzehrer (%)	22	
	Median	0,005	<b>47.612</b>
	95. Perzentil	0,020	<b>11.623</b>
Verzehrer von Rooibostee	Verzehrer (%)	4	
	Median	0,006	<b>37.436</b>
	95. Perzentil	0,023	<b>10.098</b>

<sup>1</sup>14 bis 80 Jahre; <sup>2</sup>BMDL<sub>10</sub> = 237 µg/d pro kg KG (EFSA 2017b), Berechnung aus tatsächlicher Aufnahme (nicht gerundet) ; <sup>3</sup>nns = nicht näher spezifiziert

Die geschätzte chronische Gesamtexposition über alle berücksichtigten Lebensmittelgruppen führt in den betrachteten Szenarien für Kinder und Erwachsene zu Aufnahmemengen, die sowohl für Normalverzehrer als auch für Vielverzehrer in MOE-Werten von über 10.000 resultieren. Gesundheitliche Risiken durch die derart ermittelte Gesamtexposition gegenüber 1,2-ungesättigten PA sind daher als wenig wahrscheinlich anzusehen. Bei der Interpretation dieser Ergebnisse ist aber zu beachten, dass die ermittelten MOE-Werte bei den Vielverzehrern nur knapp oberhalb von 10.000 liegen. Zudem findet eine Exposition gegenüber 1,2-ungesättigten PA noch über weitere Lebensmittelgruppen statt, die in der hier präsentierten Schätzung der Gesamtaufnahme noch nicht berücksichtigt werden konnten und dementsprechend zu einer weiteren Abnahme der MOE-Werte führen können.

#### 3.1.6.4 Lebensmittel, die nicht in die Schätzung der Gesamtaufnahme einbezogen wurden

##### *Kräuter und Gewürze*

Für Kräuter und Gewürze ist eine belastbare Expositionsschätzung aufgrund des Fehlens valider Daten zu den Verzehrsmengen einzelner Kräuter/Gewürze nicht möglich. Die möglichen gesundheitlichen Risiken nach langfristigem Verzehr belasteter Produkte sollen daher auf Grundlage von Modellszenarien abgeschätzt werden. Dazu werden die Aufnahmemengen, die sich bei langfristigem Verzehr von Kräutern/Gewürzen mit geringen, mittleren, hohen und sehr hohen Gehalten ergeben könnten, dem BMDL<sub>10</sub> von 237 µg/kg KG und Tag gegenübergestellt und MOE-Werte ermittelt.

**Tabelle 15:** MOE-Werte, die sich aus der langfristigen Exposition gegenüber 1,2-ungesättigten PA über Kräuter/Gewürze bei Jugendlichen und Erwachsenen (14-80 Jahre) ergeben könnten.

	Verzehrmenge von Kräutern [g/kg KG und Tag]	Kategorie	Gehalt		Aufnahme [µg/kg KG und Tag]	MOE <sup>1</sup>
			MW <sup>2</sup> [µg/kg]	Median [µg/kg]		
Erwachsene, Normalverzehrer (Median)	0,011	50 (gering)	47	0	0,001	<b>430.909</b>
	0,011	1.000 (mittel)	1093	1101	0,011	<b>21.545</b>
	0,011	3.000 (hoch)	3044	3077	0,033	<b>7.182</b>
	0,011	10.000 (sehr hoch)	20394	9737	0,110	<b>2.155</b>
Erwachsene, Vielverzehrer (95. Perzentil)	0,087	50 (gering)	47	0	0,004	<b>54.483</b>
	0,087	1.000 (mittel)	1093	1101	0,087	<b>2.724</b>
	0,087	3.000 (hoch)	3044	3077	0,261	<b>908</b>
	0,087	10.000 (sehr hoch)	20394	9737	0,870	<b>272</b>

<sup>1</sup>BMDL<sub>10</sub> = 237 µg/kg KG und Tag (EFSA 2017b); <sup>2</sup> MW = Mittelwert.

Für erwachsene Normalverzehrer ergibt sich gemäß diesen Modellszenarien bei Verzehr von Kräutern/Gewürzen mit geringen und mittleren Gehalten (50 µg/kg und 1.000 µg/kg) jeweils ein MOE oberhalb von 10.000. Erst bei Verzehr von Kräutern mit hohen Gehalten (3.000 µg/kg) käme es zu einer Unterschreitung des MOE von 10.000. Bei Vielverzehrern von Kräutern/Gewürzen würde ein MOE von 10.000 hingegen bereits bei alleinigem Verzehr von Kräutern/Gewürzen mit mittleren Gehalten (1.000 µg/kg) deutlich unterschritten. Bei der Interpretation ist außerdem zu beachten, dass diese MOE-Werte aus der alleinigen Aufnahme 1,2-ungesättigter PA über Verzehr von Kräutern/Gewürzen resultieren, während in der Realität eine Vielzahl von Lebensmitteln zur Gesamtexposition beitragen. Es ist aber zu beachten, dass die realen Verzehrsmengen einzelner Kräuter weitgehend unbekannt sind.

Für die gesundheitliche Einschätzung möglicher Wirkungen nach kurzfristigem Verzehr von mit 1,2-ungesättigten PA belasteten Kräutern/Gewürzen werden die im Kapitel 3.1.5.4 über Modellgerichte abgeschätzten Expositionen mit dem für die Bewertung der nicht-kanzerogenen Wirkungen hilfsweise herangezogenen Orientierungswert von 0,1 µg/kg KG und Tag verglichen.

**Tabelle 16:** Kurzfristige Exposition gegenüber 1,2-ungesättigte PA durch den Verzehr von Gerichten mit Kräutern/Gewürzen und Ausschöpfung des für die Bewertung der nicht-kanzerogenen Wirkungen hilfsweise herangezogenen Orientierungswerts von 0,1 µg/kg KG und Tag (ÜF).

		Verzehrmenge (Kräuter) [g/kg KG und Tag]	Gehalt (P95) [µg/kg]	Aufnahme [µg/kg KG und Tag]	ÜF <sup>1</sup>
Szenario 1	Borretsch	0,119	248.061	29,53	<b>296</b>
	weitere Kräuter	0,738	155	0,11	
Szenario 2	Oregano	0,010	18.772	0,18	<b>1,8</b>
Szenario 3	Liebstockel + Petersilie <sup>2</sup>	0,029	7.487	0,08	<b>0,8</b>

<sup>1</sup>ÜF: Überschreitungsfaktor; <sup>2</sup>Petersilie (Blattgewürz).

Die Betrachtung der Modellgerichte zeigt, dass bei Verwendung hochbelasteter Kräuter bereits bei Verzehr einer einzelnen Portion Aufnahmemengen an 1,2-ungesättigten PA erreicht werden können, die den hilfsweise herangezogenen Orientierungswert von  $0,1 \mu\text{g}/\text{kg KG}$  und Tag überschreiten. Dieser Orientierungswert ist aufgrund der Ableitung auf Basis einer chronischen Studie als konservativ anzusehen, weshalb eine kurzfristige geringfügige Überschreitung vermutlich unproblematisch ist. Insbesondere die im Szenario 1 beobachtete Überschreitung um fast das 300-fache gibt aber Anlass zur Besorgnis. Da sich diese Szenarien jeweils auf den Verzehr einer einzelnen Portion beziehen, erscheint auch die Aufnahme noch höherer Mengen möglich.

Die vorläufige Abschätzung verdeutlicht, dass der Verzehr von Kräutern/Gewürzen – obwohl deren Verzehrsmengen vermutlich gering sind – erheblich zur langfristigen wie auch kurzfristigen Exposition gegenüber 1,2-ungesättigten PA beitragen kann. Dabei ist zu beachten, dass die besonders hohen Gehalte insbesondere in Borretsch, Oregano, Liebstöckel sowie in Gewürzmischungen beobachtet wurden. Diese Kräuter stellen somit eine wesentliche Expositionsquelle dar. Allerdings sind sowohl die Expositionsschätzung für die langfristige Exposition als auch die über Modellgerichte abgeschätzte mögliche kurzfristige Aufnahme von 1,2-ungesättigten PA über Kräuter/Gewürze mit Unsicherheiten behaftet. Zum jetzigen Zeitpunkt fehlen insbesondere belastbare Daten zum längerfristigen und zum kurzzeitigen Verzehr verschiedener Kräuter.

#### *Rucola*

Vier von 17 Proben von Rucola wiesen Gehalte über der Nachweisgrenze auf ( $0,28 \mu\text{g}/\text{kg}$ ;  $26,5 \mu\text{g}/\text{kg}$ ,  $31,9 \mu\text{g}/\text{kg}$  und  $166.384 \mu\text{g}/\text{kg}$ ), wobei der Gehalt in einer der vier Proben über 5.000-fach höher war als in den anderen drei Proben.

Gemäß der in Kapitel 3.1.5.4 durchgeführten Expositionsschätzung ergäbe sich bei Berücksichtigung der Gehalte im 95. Perzentil bzw. des maximalen Gehalts für den kurzfristigen Verzehr eine Aufnahme an 1,2-ungesättigten PA bei Erwachsenen von  $175,2 \mu\text{g}/\text{kg KG}$  und Tag. Dieser Wert läge mehr als 1750-fach über dem hilfsweise herangezogenen Orientierungswert von  $0,1 \mu\text{g}/\text{kg KG}$  und Tag. Bei einer Betrachtung ohne den maximalen Wert würde die Aufnahme durch Verzehr von Rucola hingegen unter  $0,0005 \mu\text{g}/\text{kg KG}$  und Tag liegen.

Für den mittleren langfristigen Verzehr ergibt die Aufnahmeschätzung für Erwachsene eine Aufnahme an 1,2-ungesättigten PA von  $0,34 \mu\text{g}/\text{kg KG}$  und Tag. Der resultierende MOE läge bei 692. Die Betrachtung ohne den maximalen Wert würde hingegen in einer Aufnahme von unter  $0,0005 \mu\text{g}/\text{kg KG}$  und Tag resultieren, was einem MOE von über 474.000 entspricht.

Insgesamt verdeutlichen diese Befunde, dass über Verzehr von Rucola in der Regel keine nennenswerten Mengen an 1,2-ungesättigten PA aufgenommen werden. In Einzelfällen – vermutlich bedingt durch massive Verunreinigungen mit Bestandteilen PA-bildender Pflanzen – können in Rucola aber sehr hohe Gehalte vorkommen. Bei Aufnahmemengen von über  $175 \mu\text{g}/\text{kg KG}$  und Tag erscheinen gesundheitliche Beeinträchtigungen bereits nach kurzfristigem Verzehr möglich.

## 3.2 Beurteilung der Qualität der verfügbaren Daten

### 3.2.1 Beurteilung der toxikologischen Daten

Die Datenlage zur Toxikologie 1,2-ungesättigter PA ist sehr umfangreich. Bezüglich des für die Risikobewertung relevanten Endpunkts, der genotoxisch-karzinogenen Wirkung, liegen für einige Vertreter dieser Stoffgruppe eindeutig positive Befunde aus tierexperimentellen Studien an Nagern vor. Aussagekräftige Daten für den Menschen (z. B. epidemiologische Studien oder *follow up*-Untersuchungen bei Vergiftungsfällen) fehlen jedoch. Basierend auf Daten zum Metabolismus, zur Genotoxizität und Karzinogenität wird aber von den meisten wissenschaftlichen Bewertungsgremien, einschließlich BfR und EFSA, davon ausgegangen, dass die 1,2-ungesättigten PA auch beim Menschen genotoxisch-karzinogen wirken. Auch die IARC stufte verschiedene 1,2-ungesättigte PA in die Kategorie 2B, also als „possibly carcinogenic to humans“, ein (IARC 2019).

Hinsichtlich ihrer genotoxisch-karzinogenen Wirkung werden die einzelnen 1,2-ungesättigten PA derzeit als Gruppe mit kumulativer Wirkung und einer dem Riddelliin äquivalenten krebserzeugenden Potenz berücksichtigt. Unsicherheiten ergeben sich dabei aus den Daten dieser Studie und der durchgeführten Dosis-Wirkungs-Modellierung. Diese können sowohl zu einer Über- als auch zu einer Unterschätzung des Risikos führen. Auf Basis verschiedener experimenteller Daten ist zudem zu erwarten, dass sich die karzinogene Potenz einzelner 1,2-ungesättigter PA und ihrer *N*-Oxide unterscheiden kann. Seit einiger Zeit wird daher diskutiert, in welcher Weise die unterschiedliche karzinogene Potenz einzelner Vertreter besser berücksichtigt werden könnte. Aus Sicht des BfR können die auf Basis der gegenwärtig verfügbaren Daten von verschiedenen Autoren vorgeschlagenen Potenzfaktoren aufgrund verschiedener Unsicherheiten für eine belastbare Risikobewertung allerdings noch nicht herangezogen werden. Es wird daher als konservativer Ansatz für die Risikobewertung weiterhin eine vergleichbare Potenz der verschiedenen 1,2-ungesättigten PA angenommen. Dieses Vorgehen führt vermutlich zu einer Überschätzung des Risikos. Vor dem Hintergrund der verschiedenen Unsicherheiten in den unterschiedlichen Bereichen (Toxikologie, Analytik, Expositionsschätzung) würde die Berücksichtigung von auf dem derzeitigen Kenntnisstand abgeleiteten Potenzfaktoren eine Genauigkeit andeuten, die tatsächlich noch nicht gegeben wäre.

Zur akuten und chronischen (nicht-karzinogenen) Toxizität liegen aussagekräftige Daten aus tierexperimentellen Untersuchungen und zahlreichen Fallberichten von Vergiftungen beim Menschen vor. Es ist als gesichert anzusehen, dass die 1,2-ungesättigten PA in hohen Dosen bei akuter und in niedrigeren Dosen bei mittel- bis längerfristiger Exposition sowohl beim Menschen als auch bei Versuchstieren und Nutztieren zu nicht-karzinogenen Leberschäden führen. Zudem können auch andere Organe, insbesondere die Lunge, betroffen sein. Unsicherheit besteht hingegen hinsichtlich der genauen Dosis-Wirkungs-Beziehung nach kurz-, mittel- und langfristiger Exposition. Aus zwei relativ gut dokumentierten Vergiftungsfällen bei Kindern ist bekannt, dass tägliche Aufnahmemengen von etwa 1-3 mg/kg KG bereits nach wenigen Tagen zu schweren Schädigungen der Leber bzw. zu letalen Vergiftungen führen können. Dieser Dosisbereich kennzeichnet somit Aufnahmemengen, bei denen mit dem Auftreten schwerer Wirkungen gerechnet werden muss. Diese Information kann bei der Beurteilung akuter Effekte ebenfalls als ein Baustein berücksichtigt werden – insbesondere dann, wenn Aufnahmemengen in dieser Größenordnung erreicht werden. Aufgrund fehlender Informationen zur Dosis-Wirkungs-Beziehung lässt sich daraus aber nicht abschätzen, bis zu welcher Aufnahmemenge toxische Wirkungen nach kurzfristiger Aufnahme 1,2-ungesättigter PA nicht zu erwarten sind. Es kann also für 1,2-ungesättigte PA aktuell



kein hinreichend sicherer Abstand zwischen den letalen Dosen und einer sicheren Aufnahmemenge wissenschaftlich begründet werden.

Zur Beurteilung möglicher nicht-karzinogener Wirkungen greift das BfR daher in bestimmten Fällen hilfsweise auf einen Orientierungswert von 0,1 µg/kg KG und Tag zurück. Dieser Wert wurde auf Basis eines NOAEL von 10 µg/kg KG und Tag (Endpunkt: Hepatozytenvergrößerung) aus einer chronischen Studie an Ratten und Anwendung eines Extrapolationsfaktors von 100 zur Berücksichtigung von Intra- und Interspeziesvariabilitäten abgeleitet. Danach wäre bei einer Exposition gegenüber 1,2-ungesättigten PA von bis zu 0,1 µg/kg KG und Tag nicht mit dem Auftreten nicht-karzinogener Wirkungen zu rechnen. Da dieser Wert auf Basis einer chronischen Studie abgeleitet wurde, ist die Anwendung dieses Orientierungswertes zur Beurteilung möglicher Effekte nach kurz- und mittelfristiger Exposition als konservativ anzusehen. Die Verwendung führt somit vermutlich zu einer Überschätzung des Risikos, trägt dafür aber den aus der Datenlage resultierenden Unsicherheiten Rechnung.

Eine weitere Verstärkung der lebertoxischen Wirkung der 1,2-ungesättigten PA kann sich zudem durch die Interaktion mit anderen lebertoxischen Stoffen ergeben, z. B. bestimmten Schimmelpilzgiften oder Ethanol. Eine Wirkungsverstärkung muss auch bei bestehenden Leberschäden, z. B. während oder infolge viraler Infektionen, in Betracht gezogen werden. Diese Faktoren können gegenwärtig aber nicht angemessen berücksichtigt werden und führen daher ggf. zu einer Unterschätzung des Risikos.

### 3.2.2 Beurteilung der chemisch-analytischen Daten

Welche Parameter einer Methode zu validieren sind und welche Leistungskriterien dabei zu erreichen sind, wird in verschiedenen Verordnungen, Normen und Leitlinien beschrieben. Die Leitlinie für die Methodvalidierung und Qualitätskontrolle zur Analyse von Pestizidrückständen in Lebens- und Futtermitteln ist hier stellvertretend genannt, da darin eine präzise Beschreibung der Methodenparameter und der geforderten Kriterien vorgenommen wird. In Kombination mit dem pragmatischen Ansatz der Durchführung stellt dieses Dokument einen internationalen Standard mit hoher Anerkennung dar (SANTE 2017). Unbenommen von der Anwendung solcher Leitlinien kristallisieren sich bei der Analytik von 1,2-ungesättigten PA bestimmte Faktoren heraus, die die Vergleichbarkeit von Ergebnissen bzw. die Validität der Methoden beeinflussen können. Dieser Erkenntnisstand basiert u. a. auf den Ergebnissen zahlreicher Methodvalidierungsstudien bzw. Laborvergleichsuntersuchungen und den damit verbundenen Testungen zur Homogenität des Probenmaterials (BfR 2015, 2016c).

Folgende Punkte stellen spezielle Faktoren bei der Analyse 1,2-ungesättigter PA in Lebens- und Futtermitteln dar, die die Ergebnisse stärker beeinflussen als bei anderen Analyt-Matrix-Kombinationen:

- Lebens- und Futtermittelproben mit fester Konsistenz, die mit PA-Pflanzen kontaminiert sind, weisen eine höhere Inhomogenität auf als andere Analyt-Matrix-Kombinationen.
- Die angewandten analytischen Verfahren sind auf Referenzstandards angewiesen, die durch Isolation aus natürlichem Material hergestellt werden. Die Qualität der Referenzstandards kann daher die Ergebnisse beeinflussen.

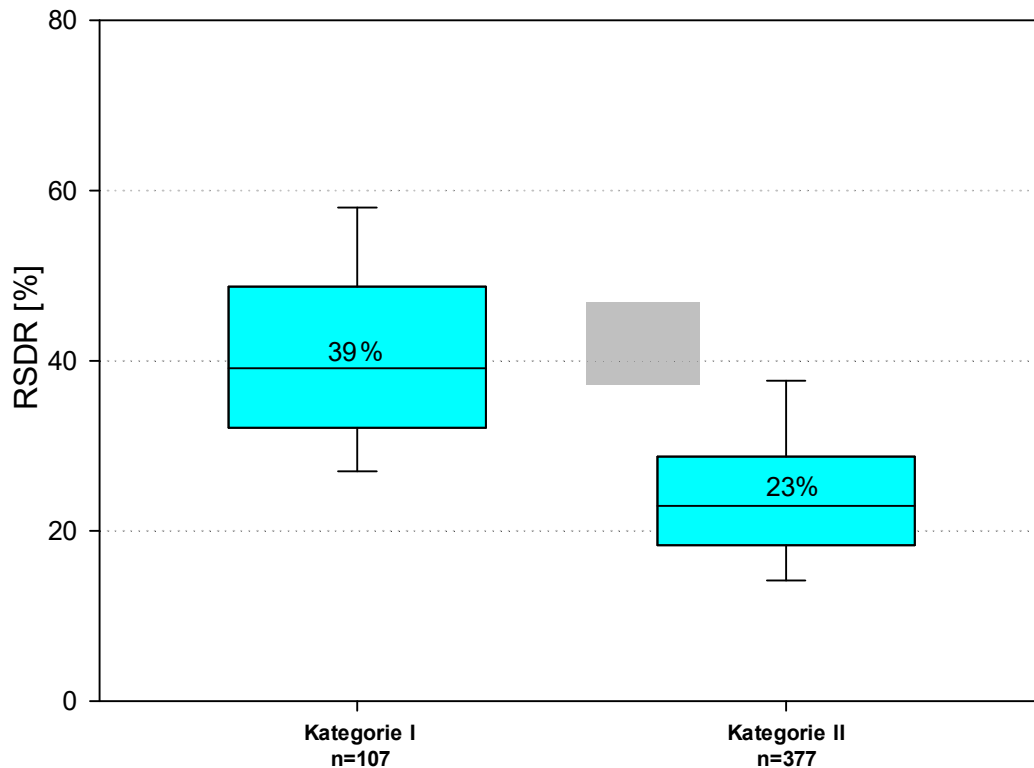
- Eine Verbesserung der massenspektrometrischen Quantifizierung durch Kompensation sogenannter Matrixeffekte kann nicht über isotoopenmarkierte interne Standards erfolgen.

Das bedeutet, dass in der PA-Analytik höhere Vergleichsstandardabweichungen auftreten können als bei anderen Analyt-Matrix-Kombinationen. Dies ist u. a. dadurch begründet, dass die Vergleichsstandardabweichung die Summe aus der analytischen Messpräzision und der, trotz sorgfältigster Homogenisierung, variablen Gehalte an 1,2-ungesättigten PA in verschiedenen Teilproben darstellt. Es wird empfohlen, die im Folgenden dargelegten Punkte bei der Festlegung methodischer Leistungskriterien zur Bestimmung 1,2-ungesättigter PA in Lebens- und Futtermitteln, wie beispielsweise in der Überarbeitung der SANTE/12089/2016 bzw. VO (EG) Nr. 401/2006 angestrebt, einzubeziehen.

### 3.2.2.1 Homogenität der Proben

Derzeit wird die Probenahme von Handelsproben für die Bestimmung von 1,2-ungesättigten PA in Lebensmitteln in Analogie zur Verordnung (EG) Nr. 401/2006 zur Festlegung der Probenahmeverfahren und Analysemethoden für die amtliche Kontrolle des Mykotoxingehalts von Lebensmitteln durchgeführt. Dabei werden Nahrungsergänzungsmittel zur Bestimmung von PA analog zum Verfahren für pflanzliche Öle (Abschnitt M, Anhang I) und Säuglingsnahrung und Getreidebeikost für Säuglinge und Kleinkinder zur Bestimmung von Tropanalkaloiden gemäß Abschnitt J (Anhang I) beprobt. Die Probenahme für Tee, Kräutertee und Gewürze wird gemäß des Verfahrens für Gewürze (Abschnitt E, Anhang I) durchgeführt. Für die Bestimmung von PA und TA in üblichen Handelsproben werden fünf Einzelproben (*incremental sample*) von je 100 g gezogen, die eine Sammelprobe (*aggregate sample*) mit einem Gewicht von 0,5 Kilogramm ergeben (Abschnitt E.4., Anhang I).

Der erste Schritt der sich anschließenden Analyse beinhaltet das Homogenisieren der Proben mit der Absicht, dass das Analysenergebnis repräsentativ für die Gesamtprobe ist. Im Falle von Proben mit fester Konsistenz wird die Gesamtprobe durch einen Mahlvorgang auf eine einheitliche Partikelgröße gebracht (im Allgemeinen werden Partikelgrößen zwischen 250-500 µm erzeugt). Allerdings hat sich gezeigt, dass in Ringversuchen zur Bestimmung von 1,2-ungesättigten PA unterschiedliche Vergleichsstandardabweichungen ( $RSD_R$ ) auftreten, in Abhängigkeit davon, ob Proben mit fester Konsistenz, wie z. B. Kräutertee, oder flüssig-viskose Proben, wie z. B. Honig, analysiert werden. Die in Abbildung 5 dargestellten Daten veranschaulichen, dass Lebens- und Futtermittelproben mit fester Konsistenz, die mit PA-Pflanzen kontaminiert sind (Kategorie I), eine höhere Inhomogenität aufweisen als künstlich kontaminierte bzw. flüssig-viskose Proben (Kategorie II).



**Abbildung 5:** Mediane der relativen Vergleichsstandardabweichung zwischen verschiedenen Laboren für 484 PA-Matrix-Kombinationen, aufgeteilt in natürlich kontaminierte Proben mit fester Konsistenz (Kategorie I) und künstlich kontaminierte bzw. flüssig-viskose Proben (Kategorie II).

Eine Schwierigkeit bei der Bestimmung 1,2-ungesättigter PA in Lebens- und Futtermitteln mit fester Konsistenz besteht darin, dass eine vergleichsweise geringe Anzahl von PA-Pflanzenpartikeln mit sehr hohem PA-Gehalt in einer hohen Anzahl Probenpartikel vorliegt. Man spricht hier von sogenannten Spot-Kontaminationen. Die Schwierigkeit wird dadurch erhöht, dass PA-Pflanzen unterschiedliche Gehalte an 1,2-ungesättigten PA in ihren jeweiligen Pflanzenteilen enthalten. Das bedeutet zwangsläufig, dass die Partikel in einer Probe sich in ihren PA-Gehalten unterscheiden, in Abhängigkeit davon, ob sich Blüten-, Blatt- oder Stängelpartikel in der Probe befinden. Eine zufriedenstellende Vergleichbarkeit mehrerer Analyseergebnisse einer Gesamtprobe ist folglich nur zu erreichen, wenn nach der Homogenisierung in jeder Teilprobe die gleiche Anzahl und Art an PA-Pflanzenpartikeln vorliegt. Das ist in der Praxis kaum zu realisieren, so dass die zwangsläufig heterogene Verteilung von Teilen PA-haltiger Pflanzen in kontaminierten Proben die Vergleichbarkeit der Analyseergebnisse von Teilproben beeinflusst. Obwohl die Homogenisierung von Lebensmittel- oder Futtermittelproben mit großem Aufwand betrieben wird, werden die ermittelten Gehalte an 1,2-ungesättigten PA immer vergleichsweise hohen Schwankungen unterliegen. Diese Schwankungen spiegeln nicht die Leistungsfähigkeit der Analysemethoden bzw. der Labore wider, sondern repräsentieren die unterschiedlichen PA-Gehalte in verschiedenen Teilproben.

### 3.2.2.2 Qualität der Referenzstandards und das Fehlen isotopenmarkierter Standards

Die 1,2-ungesättigten PA weisen Strukturen auf, die – wenn überhaupt – nur mit hohem Aufwand durch eine Synthese herzustellen sind. Da sie auch keinen medizinischen Nutzen haben, stellen PA-Referenzstandards Produkte dar, die einen geringen Absatz aufweisen, so dass eine chemische Synthese im technischen Maßstab derzeit nicht praktikabel erscheint. Daraus kann abgeleitet werden, dass die Herstellung isotopenmarkierter Standards mit noch höherem Arbeits- und Kostenaufwand verbunden ist. Isotopenmarkierte Standards (Einbau schwerer stabiler Isotopen in das Molekül) besitzen die gleichen physikalisch-chemischen Eigenschaften wie der „target“-Analyt und würden ideale interne Standards zur Verbesserung der Quantifizierung mittels Massenspektrometrie darstellen. Derzeit werden die zur Analytik genutzten Referenzstandards mit hohem Aufwand aus PA-Pflanzen präparativ isoliert und können daher in der Praxis Unterschiede im Grad der Reinheit aufweisen.

### 3.2.2.3 Matrixeffekte bei der Quantifizierung

Ein sensibler Schritt bei massenspektrometrischen Verfahren ist die Quantifizierung, die 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 Analyten, der in einem matrixreichen Extrakt aus dem zu untersuchenden Lebens- oder Futtermittel vorliegt. Die Isotopenverdünnung ist ein anerkanntes Verfahren zur Kompensation von Matrixeffekten, kann aber aufgrund des Fehlens von isotopenmarkierten Referenzstandards nicht angewandt werden. Der Einfluss der Matrix auf die Quantifizierung muss auf anderen Wegen kompensiert werden. Derzeit werden in der PA-Analytik drei Ansätze genutzt: die Standardaddition, die externe Kalibration über „matrix matched standards“ oder die Matrixverdünnung in Form von stark verdünnten Probenmessungen.

### 3.2.3 Beurteilung der für die Expositionsschätzung herangezogenen Daten

Die Gehalte an 1,2-ungesättigten PA in den verschiedenen Lebensmitteln zeigen eine große Streuung, wobei ein hoher Anteil der Gehalte unter der Nachweisgrenze liegt. Bei den berücksichtigten Proben wurden 21 spezifische Einzelsubstanzen für die Summenbildung herangezogen. Die Proben, in denen nicht alle 21 Einzelsubstanzen untersucht wurden, wurden nicht in die Betrachtungen einbezogen. Hinzuweisen ist weiterhin auf die erhebliche Stichprobenunsicherheit durch Vorliegen von geringen Probenzahlen bei einigen Lebensmitteln wie z. B. Rucola.

Beide Verzehrsstudien (NVS II, VELs) wurden vor 10 oder mehr Jahren durchgeführt. Es ist zu vermuten, dass sich in dieser Zeit aufgrund verschiedener Trends die Vorlieben für Lebensmittel im Allgemeinen und im Speziellen beispielsweise für Teesorten verschoben haben können und somit heutzutage zum Beispiel von einem höheren Verzehranteil für Rooibos-tee auszugehen ist. In den *24h-Recalls* wurde der Verzehr von Brennesseltee, Fencheltee, Kamillentee und Pfefferminztee nicht explizit genannt, wobei die Vermutung nahe liegt, dass die Verzehrsmengen dieser Teesorten in denen von Kräutertee (nns) enthalten sind. Aufgrund der unterschiedlichen Gehalte an 1,2-ungesättigten PA in den verschiedenen Teesorten kann es durch das beschriebene Vorgehen bzgl. der Verzehrsmengen zu einer Über- oder Unterschätzung der Aufnahme über die genannten Tees kommen.

Aufgrund des Vorliegens von mindestens zwei einzelnen Tagen aus den *24h-Recalls* der NVS II und VELs sind die Daten prinzipiell sowohl für Expositionsschätzungen bei akuten als auch bei chronischen Risiken geeignet. Durch das Schließen von Verzehrangaben weniger

Tage auf den langfristigen Verzehr ohne Anwendung von Extrapolationsmethoden kann es allerdings zu Verzerrungen kommen.

Einige Lebensmittel konnten nicht in die Expositionsschätzung bzw. in die Gesamtberechnung einbezogen werden, da die Datenanforderungen nicht erfüllt wurden. Mögliche zusätzliche Expositionsquellen stellen demnach Kräuter/Gewürze, Rucola und Mehl dar, so dass von einer Unterschätzung der Gesamtaufnahme an 1,2-ungesättigten PA auszugehen ist.

Die Gehaltsdaten wurden nach einem modifizierten *lower bound*-Ansatz berechnet, der zu einer Unterschätzung führen kann. Es wurden nur mittlere Gehalte in die Schätzung der langfristigen Exposition einbezogen, d. h. die Gesamtaufnahme kann bei Verzehr von Lebensmitteln mit hohen Gehalten höher liegen, wenn eine Person über einen langen Zeitraum eine erhöhte Wahrscheinlichkeit hat, ausschließlich gegenüber Lebensmitteln mit hohen Gehalten exponiert zu sein, z. B. im Fall von Markentreue oder großen Einzelverpackungsgrößen, die über längere Zeit im Haushalt verzehrt werden. Ebenso kann die Gesamtaufnahme beim langfristigen Verzehr von Lebensmitteln mit niedrigen Gehalten geringer sein.

Die kurzfristige Expositionsschätzung stellt evtl. eine Unterschätzung der Aufnahme dar, da die Aufnahme 1,2-ungesättigter PA über verschiedene Lebensmittel am gleichen Tag nicht betrachtet wurde.

Die hier dargestellte Gesamtexposition des Verbrauchers gegenüber 1,2-ungesättigten PA bezieht sich auf die zur Verfügung stehenden Gehalte in den beprobten Lebensmitteln. Es muss jedoch angemerkt werden, dass auch andere Lebensmittel 1,2-ungesättigte PA enthalten können, die bei den bisherigen Untersuchungen nicht im Fokus standen. Weiterhin ist zu beachten, dass Lebensmittel nur auf einen kleinen Teil an Einzelsubstanzen standardmäßig im Labor untersucht werden und demnach von höheren Gesamtgehalten in verschiedenen Lebensmitteln auszugehen ist.

### 3.3 Schlussfolgerungen und empfohlene Maßnahmen

Zusammenfassend wird deutlich, dass sowohl die mittleren Gehalte an 1,2-ungesättigten PA als auch die Gehalte im 95. Perzentil in den letzten Jahren in den meisten Lebensmittelgruppen deutlich verringert werden konnten. Besonders ausgeprägt ist diese Abnahme bei Grünem Tee, Schwarzem Tee und Pfefferminztee, aber auch bei Kamillentee, Kräutertee und Rooibostee. Dementsprechend ist auch die (chronische) Aufnahme 1,2-ungesättigter PA in den letzten Jahren gesunken.

Die Schätzung der möglichen kurzfristigen Aufnahme 1,2-ungesättigter PA über die berücksichtigten Lebensmittelgruppen hat gezeigt, dass über einzelne Lebensmittelgruppen kurzfristig Aufnahmemengen erreicht werden können, die den hilfsweise herangezogenen Orientierungswert von 0,1 µg/kg KG und Tag geringfügig übersteigen. Die kurzfristigen Aufnahmemengen über einzelne Lebensmittelgruppen lagen immer unterhalb von 0,2 µg/kg KG und Tag. Dabei ist zu beachten, dass der hilfsweise herangezogene Orientierungswert aufgrund der Ableitung auf Basis einer chronischen Studie als konservativ anzusehen ist. Bei den meisten betrachteten Lebensmittelgruppen lagen die geschätzten Aufnahmemengen zudem, zum Teil deutlich, unterhalb des Orientierungswerts.

Die geschätzte chronische Gesamtexposition über alle berücksichtigten Lebensmittelgruppen führt in den betrachteten Szenarien für Kinder und Erwachsene zu Aufnahmemengen, die sowohl für Normalverzehrer als auch für Vielverzehrer in MOE-Werten von über 10.000 resultieren. Gesundheitliche Risiken durch die derart ermittelte Gesamtexposition gegenüber

1,2-ungesättigten PA sind daher als wenig wahrscheinlich anzusehen. Bei der Interpretation dieser Ergebnisse ist aber zu beachten, dass die ermittelten MOE-Werte bei den Vielverzehrern nur knapp oberhalb von 10.000 liegen.

Zudem findet eine Exposition gegenüber 1,2-ungesättigten PA noch über weitere Lebensmittel statt, die in der hier präsentierten Schätzung der Gesamtaufnahme noch nicht berücksichtigt werden konnten und dementsprechend zu einer weiteren Abnahme der MOE-Werte führen können. Hierzu zählen beispielsweise Kräuter/Gewürze und NEM. Die vorläufige Abschätzung für Kräuter/Gewürze deutet beispielsweise darauf hin, dass diese, obwohl deren Verzehrsmengen gering sind, erheblich zur langfristigen wie auch kurzfristigen Exposition gegenüber 1,2-ungesättigten PA beitragen können. So ergibt sich gemäß der anhand von praxisrelevanten Annahmen durchgeführten Modellrechnungen beispielsweise, dass ein MOE von 10.000 bei erwachsenen Normalverzehrern bei alleinigem Verzehr von Kräutern/Gewürzen mit hohen Gehalten (3.000 µg/kg) und bei erwachsenen Vielverzehrern bei alleinigem Verzehr von Kräutern/Gewürzen mit mittleren Gehalten (1.000 µg/kg) deutlich unterschritten werden könnte. Bei der Interpretation ist außerdem zu beachten, dass diese MOE-Werte aus der alleinigen Aufnahme 1,2-ungesättigter PA über Verzehr von Kräutern/Gewürzen resultieren, während in der Realität eine Vielzahl von Lebensmitteln zur Gesamtexposition beitragen. Besonders hohe Gehalte fanden sich in Borretsch, Oregano, Liebstöckel sowie in Gewürzmischungen. Diese Kräuter stellen somit eine relevante zusätzliche Expositionsquelle dar. Für diese Lebensmittelgruppen fehlen aktuell insbesondere Daten zu Gehalten und zu den realen Verzehrsmengen einzelner Kräuter, so dass diese nicht in die Schätzung der Gesamtaufnahme an 1,2-ungesättigten PA einbezogen werden konnten.

Die genotoxisch-karzinogenen Wirkungen stehen bei der Risikobewertung der 1,2-ungesättigten PA im Vordergrund. Aus Sicht des BfR sollten sich auch Risikomanagementmaßnahmen an der Vermeidung derartiger Wirkungen orientieren. In der Europäischen Union gilt generell die Empfehlung, die Exposition gegenüber genotoxisch und karzinogen wirkenden Substanzen so weit zu minimieren, wie dies vernünftig erreichbar ist (ALARA-Prinzip: *as low as reasonably achievable*), da selbst geringe Aufnahmemengen, insbesondere bei regelmäßigem Verzehr, mit einer Erhöhung gesundheitlicher Risiken verbunden sein können.

Daher empfiehlt das BfR, die Bemühungen fortzusetzen, um die Gehalte an 1,2-ungesättigten PA in allen Lebensmittelgruppen durch eine Verbesserung von Anbau-, Ernte- und Reinigungsmethoden so weit wie technisch machbar zu senken. Dies gilt in besonderem Maße für Lebensmittelgruppen wie Kräuter/Gewürze, die auch gegenwärtig durch teilweise sehr hohe Gehalte auffallen.

**Weitere Informationen auf der BfR-Website zum Thema Pyrrolizidinalkaloide in Lebensmitteln**

[https://www.bfr.bund.de/de/a-z\\_index/pyrrolizidinalkaloide-127028.html#fragment-2](https://www.bfr.bund.de/de/a-z_index/pyrrolizidinalkaloide-127028.html#fragment-2)

[https://www.bfr.bund.de/de/fragen\\_und\\_antworten\\_zu\\_pyrrolizidinalkaloiden\\_in\\_lebensmitteln-187302.html](https://www.bfr.bund.de/de/fragen_und_antworten_zu_pyrrolizidinalkaloiden_in_lebensmitteln-187302.html)

<https://www.bfr.bund.de/cm/343/pyrrolizidinalkaloidgehalt-in-getrockneten-und-tiefgefrorenen-gewuerzen-und-kraeutern-zu-hoch.pdf>



„Stellungnahmen-App“ des BfR

#### 4 Referenzen

- Allemang A., Mahony C., Lester C., Pfuhrer S. (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.
- Allgaier C. and Franz S. (2015). Risk assessment on the use of herbal medicinal products containing pyrrolizidine alkaloids. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* **73**: 494-500.
- ANZFA (Australia New Zealand Food Authority, AUS, NZ) (2001). Pyrrolizidine alkaloids in food: A toxicological review and risk assessment. *Technical Report Series No. 2*. <https://www.foodstandards.gov.au/publications/documents/TR2.pdf>.
- Banasiak U., Heseke H., Sieke C., Sommerfeld C., Vohmann C. (2005). Abschätzung der Aufnahme von Pflanzenschutzmittel-Rückständen in der Nahrung mit neuen Verzehrsmengen für Kinder. *Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz* **48**: 84-89.
- BfArM (Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte, DE) (1992). Pyrrolizidin-Alkaloide, Stufe II Abwehr von Arzneimittelrisiken. Bekanntmachung vom 17.06.1992 über die Zulassung und Registrierung von Arzneimitteln, Bescheid vom 5. Juni 1992. *Bundesanzeiger Nr. 111*: 4805.
- BfR (Bundesinstitut für Risikobewertung, DE) (2007). Salatmischung mit Pyrrolizidinalkaloidhaltigem Greiskraut verunreinigt. *Stellungnahme 028/2007 des BfR vom 10. Januar 2007*. [http://www.bfr.bund.de/cm/343/salatmischung\\_mit\\_pyrrolizidinalkaloid\\_haltigem\\_Geiskraut\\_verunreinigt.pdf](http://www.bfr.bund.de/cm/343/salatmischung_mit_pyrrolizidinalkaloid_haltigem_Geiskraut_verunreinigt.pdf).
- BfR (Bundesinstitut für Risikobewertung, DE) (2013a). Pyrrolizidinalkaloide in Kräutertees und Tees. *Stellungnahme 018/2013 des BfR vom 5. Juli 2013*. <https://www.bfr.bund.de/cm/343/pyrrolizidinalkaloide-in-kraeutertees-und-tees.pdf>.
- BfR (Bundesinstitut für Risikobewertung, DE) (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, DE) (2016a). Vorläufige Empfehlungen des BfR zur Analytik von Pyrrolizidinalkaloiden (PA) in Kräutertee und Tee (Analytisches Spektrum und Probenahmeverfahren). *Mitteilung Nr. 002/2016 des BfR vom 05. Januar 2016*. <https://www.bfr.bund.de/cm/343/vorlaeufige-empfehlungen-des-bfr-zur-analytik-von-pyrrolizidinalkaloiden-pa-in-kraeutertee-und-tee.pdf>.
- BfR (Bundesinstitut für Risikobewertung, DE) (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*. <https://www.bfr.bund.de/cm/343/pyrrolizidinalkaloide-gehalte-in-lebensmitteln-sollen-nach-wie-vor-so-weit-wie-moeglich-gesenkt-werden.pdf>.
- BfR (Bundesinstitut für Risikobewertung, DE) (2016c). Internationale Laborvergleichsuntersuchung zur Bestimmung von Pyrrolizidinalkaloiden in Kräutertee und Rooibostee. *Mitteilung Nr. 002/2016 des BfR vom 05. Januar 2016*. <https://www.bfr.bund.de/cm/350/internationale-laborvergleichsuntersuchung-zur-bestimmung-von-pyrrolizidinalkaloiden-in-kraeutertee-und-rooibostee.pdf>.
- BfR (Bundesinstitut für Risikobewertung, DE) (2018). Aktualisierte Risikobewertung zu Gehalten an 1,2-ungesättigten Pyrrolizidinalkaloiden (PA) in Lebensmitteln. *Stellungnahme Nr. 020/2018 des BfR vom 14. Juni 2018*. <https://www.bfr.bund.de/cm/343/aktualisierte-risikobewertung-zu-gehalten-an-1-2-ungesaettigten-pyrrolizidinalkaloiden-pa-in-lebensmitteln.pdf>.



- BfR (Bundesinstitut für Risikobewertung, DE) (2019). Pyrrolizidinalkaloidgehalt in getrockneten und tiefgefrorenen Gewürzen und Kräutern zu hoch. *Stellungnahme Nr. 017/2019 des BfR vom 13. Mai 2019*. <https://www.bfr.bund.de/cm/343/pyrrolizidinalkaloidgehalt-in-getrockneten-und-tiefgefrorenen-gewuerzen-und-kraeutern-zu-hoch.pdf>.
- BfR (Bundesinstitut für Risikobewertung) (2013b). Analytik und Toxizität von Pyrrolizidinalkaloiden sowie eine Einschätzung des gesundheitlichen Risikos durch deren Vorkommen in Honig. *Stellungnahme 038/2011 des BfR vom 11. August 2011, ergänzt am 21. Januar 2013*. <http://www.bfr.bund.de/cm/343/analytik-und-toxizitaet-von-pyrrolizidinalkaloiden.pdf>.
- Bunchorntavakul C. and Reddy K. R. (2013). Review article: herbal and dietary supplement hepatotoxicity. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics* **37**: 3-17.
- Chen L., Mulder P. P. J., Lousse J., Peijnenburg A., Wesseling S., Rietjens I.M.C.M. (2017). Risk assessment for pyrrolizidine alkaloids detected in (herbal) teas and plant food supplements. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* **86**: 292-302.
- Chen M., Li L., Zhong D., Shen S., Zheng J., Chen X. (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**: 180-189.
- Chen T., Mei N., Fu P. P. (2010). Genotoxicity of pyrrolizidine alkaloids. *Journal of Applied Toxicology* **30**: 183-196.
- COT (Committee on Toxicity of Chemicals in Food, Consumer Products and the Environment, GB), (2008). COT Statement on Pyrrolizidine Alkaloids in Food. *COT Statement 2008/06 (October 2008)*.
- Cramer L., Schiebel H. M., Ernst L., Beuerle T. (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**: 11382-11391.
- Culvenor C. C. J., Edgar J. A., Smith L. W., Kumana C. R., Lin H. J. (1986). *Heliotropium lasiocarpum* fish and mealy identified as cause of veno-occlusive disease due to a herbal tea. *The Lancet* **1**: 978.
- Dai N., Yu Y. C., Ren T. H., Wu J. G., Jiang Y., Shen L. G., Zhang J. (2007). Gynura root induces hepatic veno-occlusive disease: a case report and review of the literature. *World Journal of Gastroenterology* **13**: 1628-1631.
- Danninger T., Hagemann U., Schmidt V., Schönhöfer P.S. (1983). Zur Toxizität pyrrolizidinalkaloidhaltiger Arzneipflanzen. *Pharmazeutische Zeitung* **128**: 289-303.
- Datta D. V., Khuroo M. S., Mattocks A. R., Aikat B. K., Chhuttani P. N. (1978). Herbal medicines and veno-occlusive disease in India. *Postgraduate Medical Journal* **54**: 511-515.
- de Nijs M., Mulder P. P. J., Klijnstra M. D., Driehuis F., Hoogenboom Rlap (2017). Fate of pyrrolizidine alkaloids during processing of milk of cows treated with ragwort. *Additives & Contaminants Part A, Chemistry, Analysis, Control, Exposure & Risk Assessment* **34**: 2212-2219.
- DFG (Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG): Senatskommission zur Beurteilung der gesundheitlichen Unbedenklichkeit von Lebensmitteln (SKLM), DE) (2002). Stellungnahme zu Pyrrolizidinalkaloiden in Honigen, Imkereierzeugnissen und Pollenprodukten. . *Beschluss vom 8. November 2002*.
- Dubecke A., Beckh G., Lullmann C. (2011). Pyrrolizidine alkaloids in honey and bee pollen. *Additives & Contaminants Part A, Chemistry, Analysis, Control, Exposure & Risk Assessment* **28**: 348-358.
- Dueker S. R., Lame M. W., Morin D., Wilson D. W., Segall H. J. (1992). Guinea pig and rat hepatic microsomal metabolism of monocrotaline. *Drug Metabolism and Disposition* **20**: 275-280.

- Ebmeyer J., Braeuning A., Glatt H., These A., Hessel-Pras S., Lampen A. (2019). Human CYP3A4-mediated toxification of the pyrrolizidine alkaloid lasiocarpine. *Food and Chemical Toxicology* **130**: 79-88.
- Edgar J. A., Molyneux R. J., Colegate S. M. (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 (European Food Safety Authority: Scientific Committee) (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**: 1-31.
- EFSA (European Food Safety Authority: Scientific Committee) (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: Scientific Committee) (2012). Guidance on selected default values to be used by the EFSA Scientific Committee, Scientific Panels and Units in the absence of actual measured data. *EFSA Journal* **10(3)**: 2579.
- EFSA (European Food Safety Authority: Scientific Committee) (2017a). Update: use of the benchmark dose approach in risk assessment. *EFSA Journal* **15(1)**: 4658.
- EFSA (European Food Safety Authority: Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM)) (2007). Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the European Commission related to pyrrolizidine alkaloids as undesirable substances in animal feed (Question N° EFSA-Q-2003-065). *EFSA Journal* **447**: 1-51.
- EFSA (European Food Safety Authority: Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM)) (2011). Scientific Opinion on Pyrrolizidine alkaloids in food and feed. *EFSA Journal* **9(11)**: 2406.
- EFSA (European Food Safety Authority: Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM)) (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.
- EMA (European Medicines Agency: Committee on Herbal Medicinal Products (HMPC)) (2014). Public statement on the use of herbal medicinal products containing toxic, unsaturated pyrrolizidine alkaloids (PAs). **EMA/HMPC/893108/2011**.
- Fashe M. M., R.O. Juvonen., Petsalo A., Räsänen J. , Pasanen M. (2015). Species-specific differences in the in vitro metabolism of Lasiocarpine. *Chemicals Research in Toxicology* **28**: 2034-2044.
- Field R. A., Stegelmeier B. L., Colegate S. M., Brown A. W., Green B. T. (2015). An in vitro comparison of the cytotoxic potential of selected dehydropyrrolizidine alkaloids and some N-oxides. *Toxicol* **97**: 36-45.
- Fox D. W., Hart M. C., Bergeson P. S., Jarrett P. B., Stillman A. E., Huxtable R. J. (1978). Pyrrolizidine (Senecio) intoxication mimicking Reye syndrome. *Journal of Pediatrics* **93**: 980-982.
- Fu P. P., Xia Q., Lin G., Chou M. W. (2004). Pyrrolizidine alkaloids - genotoxicity, metabolism enzymes, metabolic activation, and mechanisms. *Drug Metabolism Reviews* **36**: 1-55.
- Fu P. P. (2017). Pyrrolizidine alkaloids: Metabolic activation pathways leading to liver tumor initiation. *Chemical Research in Toxicology* **30**: 81-93.
- Fu P. P., Xia Q., He X., Barel S., Edery N., Beland F. A., Shimshoni J. A. (2017). Detection of Pyrrolizidine Alkaloid DNA Adducts in Livers of Cattle Poisoned with *Heliotropium europaeum*. *Chemical Research in Toxicology* **30**: 851-858.

- Gao H., Ruan J. Q., Chen J., Li N., Ke C. Q., Ye Y., Lin G., Wang J. Y. (2015). Blood pyrrole-protein adducts as a diagnostic and prognostic index in pyrrolizidine alkaloid-hepatic sinusoidal obstruction syndrome. *Drug Design, Development and Therapy* **9**: 4861-4868.
- Gao L., Rutz L., Schrenk D. (2020). Structure-dependent hepato-cytotoxic potencies of selected pyrrolizidine alkaloids in primary rat hepatocyte culture. *Food and Chemical Toxicology* **135**: 110923.
- Geburek I., Preiss-Weigert A., Lahrssen-Wiederholt M., Schrenk D., These A. (2020). In vitro metabolism of pyrrolizidine alkaloids - Metabolic degradation and GSH conjugate formation of different structure types. *Food and Chemical Toxicology* **135**: 110868.
- Hartmann T. and Witte L. (1995). Chapter 4: Chemistry, biology and chemoecology of pyrrolizidine alkaloids. In *Alkaloids: Chemical and Biological Perspectives*, Pelletier S. W. (ed), Vol. 9, pp 155-233. Elsevier Science,
- He X., Xia Q., Woodling K., Lin G., Fu P. P. (2017). Pyrrolizidine alkaloid-derived DNA adducts are common toxicological biomarkers of pyrrolizidine alkaloid N-oxides. *Journal of Food and Drug Analysis* **25**: 984-991.
- He X., Xia Q., Wu Q., Tolleson W. H., Lin G., Fu P. P. (2019). Primary and secondary pyrrolic metabolites of pyrrolizidine alkaloids form DNA adducts in human A549 cells. *Toxicology In Vitro* **54**: 286-294.
- He Y.-Q., Yang L., Liu H.-X., Zhang J.-W., Liu Y., Fong A., Xiong A.-Z., Lu Y.-L., Yang L., Wang C.-H., Wang Z.-T. (2010). Glucuronidation, a new metabolic pathway for pyrrolizidine alkaloids. *Chemical Research in Toxicology* **23**: 591-599.
- Heseker H., Oeppening A., Vohmann C. (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*.
- Hessel S., Gottschalk C., Schumann D., These A., Preiss-Weigert A., Lampen A. (2014). Structure-activity relationship in the passage of different pyrrolizidine alkaloids through the gastrointestinal barrier: ABCB1 excretes heliotrine and echimidine. *Molecular Nutrition and Food Research* **58**: 995-1004.
- Hong H. L., Ton T. V., Devereux T. R., Moomaw C., Clayton N., Chan P., Dunnick J. K., Sills R. C. (2003). Chemical-specific alterations in ras, p53, and  $\beta$ -catenin genes in hemangiosarcomas from B6C3F1 mice exposed to o-nitrotoluene or riddelline for 2 years. *Toxicology and Applied Pharmacology* **191**: 227-234.
- Huxtable R. J. (1980). Herbal teas and toxins: novel aspects of pyrrolizidine poisoning in the United States. *Perspectives in Biology and Medicine* **24**: 1-14.
- IARC (World Health Organization: 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 (World Health Organization: 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 (World Health Organization: International Agency for Research on Cancer) (1987). IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Suppl. 7: Overall evaluations of carcinogenicity - An updating of IARC Monographs Volumes 1 to 42.
- IARC (World Health Organization: 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.
- IARC (World Health Organization: International Agency for Research on Cancer). (2019). List of Classifications. Vol. 2019

- IPCS/INCHEM (World Health Organization: International Programme on Chemical Safety) (1988). Pyrrolizidine alkaloids. *Environmental Health Criteria* **80**.
- JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives) (2015). Eightieth meeting Rome, 16–25 June 2015. Summary and Conclusions. Issued 6 July 2015. *JECFA/80/SC*.
- Kakar F., Akbarian Z., Leslie T., Mustafa M. L., Watson J., van Egmond H. P., Omar M. F., Mofleh J. (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., Beuerle T., Buhringer M., Denner M., Trost D., von der Ohe K., Bhavanam V. B., Schreier P. (2008). Pyrrolizidine alkaloids in honey: risk analysis by gas chromatography-mass spectrometry. *Molecular Nutrition and Food Research* **52**: 1193-1200.
- Kolrep F., Numata J., Kneuer C., Preiss-Weigert A., Lahrssen-Wiederholt M., Schrenk D., These A. (2018). In vitro biotransformation of pyrrolizidine alkaloids in different species. Part I: Microsomal degradation. *Archives of Toxicology* **92**: 1089-1097.
- Krems C., Bauch A., Götz A., Heuer T., Hild A., Möseneder J., Brombach C. (2006). Methoden der Nationalen Verzehrsstudie II. *Ernährungs Umschau* **53**: 44-50.
- Krishnamachari K. A., Bhat R. V., Krishnamurthi D., Krishnaswamy K., Nagarajan V. (1977). Aetiopathogenesis of endemic ascites in Surguja district of Madhya Pradesh. *Indian Journal of Medical Research* **65**: 672-678.
- Kumana C. R., Ng M., Lin H. J., Ko W., Wu P. C., Todd D. (1983). Hepatic veno-occlusive disease due to toxic alkaloid herbal tea. *The Lancet* **2**: 1360-1361.
- Kumana C. R., Ng M., Lin H. J., Ko W., Wu P. C., Todd D. (1985). Herbal tea induced hepatic veno-occlusive disease: quantification of toxic alkaloid exposure in adults. *Gut* **26**: 101-104.
- Lester C., Troutman J., Obringer C., Wehmeyer K., Stoffolano P., Karb M., Xu Y., Roe A., Carr G., Blackburn K., Mahony C. (2019). Intrinsic relative potency of a series of pyrrolizidine alkaloids characterized by rate and extent of metabolism. *Food Chemistry and Toxicology* **131**: 110523.
- Li N., Xia Q., Ruan J., Fu P. P., Lin G. (2011). Hepatotoxicity and tumorigenicity induced by metabolic activation of pyrrolizidine alkaloids in herbs. *Current Drug Metabolism* **12**: 823-834.
- Lin G., Cui Y. Y., Liu X. Q., Wang Z. T. (2002). Species differences in the in vitro metabolic activation of the hepatotoxic pyrrolizidine alkaloid clivorine. *Chemical Research in Toxicology* **15**: 1421-1428.
- Lin G., Wang J. Y., Li N., Li M., Gao H., Ji Y., Zhang F., Wang H., Zhou Y., Ye Y., Xu H. X., Zheng J. (2011). Hepatic sinusoidal obstruction syndrome associated with consumption of *Gynura segetum*. *Journal of Hepatology* **54**: 666-673.
- Louisse J., Rijkers D., Stoop G., Holleboom W. J., Delagrangé M., Molthof E., Mulder P. P. J., Hoogenboom Rlap, Audebert M., Peijnenburg Aacm (2019). Determination of genotoxic potencies of pyrrolizidine alkaloids in HepaRG cells using the gammaH2AX assay. *Food Chemistry and Toxicology* **131**: 110532.
- Ma J., Xia Q., Fu P. P., Lin G. (2018). Pyrrole-protein adducts - A biomarker of pyrrolizidine alkaloid-induced hepatotoxicity. *Journal of Food and Drug Analysis* **26**: 965-972.
- Mattocks A. R. (1982). Hydrolysis and hepatotoxicity of retronecine diesters. *Toxicology Letters* **14**: 111-116.
- Mattocks A. R. (1986). *Chemistry and toxicology of pyrrolizidine alkaloids.*, Academic Press, London
- Merz K.-H. and Schrenk D. (2016). Interim relative potency factors for the toxicological risk assessment of pyrrolizidine alkaloids in food and herbal medicines. *Toxicology Letters* **263**: 44-57.

- Mohabbat O., Srivastava R. N., Younos M. S., Merzad A. A., Sediq G. G., Aram G. N. (1976). Outbreak of hepatic veno-occlusive disease in northwestern Afghanistan. *The Lancet* **2**: 269-271.
- Molyneux R. J., Johnson A. E., Olsen J. D., Baker D. C. (1991). Toxicity of pyrrolizidine alkaloids from Riddell groundsel (*Senecio riddellii*) to cattle. *American Journal of Veterinary Research* **52**: 146-151.
- Molyneux R. J., Gardner D. L., Colegate S. M., Edgar J. A. (2011). Pyrrolizidine alkaloid toxicity in livestock: a paradigm for human poisoning? *Additives & Contaminants Part A, Chemistry, Analysis, Control, Exposure & Risk Assessment* **28**: 293-307.
- MRI (Max Rubner-Institut - Bundesforschungsinstitut für Ernährung und Lebensmittel) (2008). Nationale Verzehrsstudie II (NVS II). *Ergebnisbericht Teil 1 und 2*.
- Mulder P. P., de Witte S. L., Stoopen G. M., van der Meulen J., van Wikselaar P. G., Gruys E., Groot M. J., Hoogenboom R. L. (2016). Transfer of pyrrolizidine alkaloids from various herbs to eggs and meat in laying hens. *Additives & Contaminants Part A, Chemistry, Analysis, Control, Exposure & Risk Assessment* **33**: 1826-1839.
- Mulder P. P. J., Sánchez P. L., These A., Preiss-Weigert A., Castellari M. (2015). Occurrence of pyrrolizidine alkaloids in food. *EFSA Supporting Publication* **2015**: EN-859.
- NCI (National Cancer Institute, US), (1978). Bioassay of lasiocarpine for possible carcinogenicity. *Carcinogenesis Technical Report Series* **39 (NCI-CG-TR-39; DHEW Publication No. (NIH) 78-839)**.
- Ning J., Chen L., Strikwold M., Lousse J., Wesseling S., Rietjens I. M. C. M. (2019). Use of an in vitro-in silico testing strategy to predict inter-species and inter-ethnic human differences in liver toxicity of the pyrrolizidine alkaloids lasiocarpine and riddelliine. *Archives of Toxicology* **93**: 801-818.
- NTP (US National Toxicology Program) (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)**.
- Oetker (2011). *Dr. Oetker Schulkochbuch Jubiläumsausgabe*, Dr. Oetker Verlag KG.
- Panziera W., Pavarini S. P., Sonne L., Barros C. S. L., Driemeier D. (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 2: Klinik, Speziesunterschiede, Rückstandsverhalten, Futtermittelkontamination und Grenzwerte. *Tieraerztliche Praxis (Ausgabe Grosstiere Nutztiere)* **6**: 363-372.
- Petzinger E. (2011b). Pyrrolizidinalkaloide und die Seneciose bei Tieren Teil 1: Vorkommen, Chemie, Toxikologie. *Tieraerztliche Praxis (Ausgabe Grosstiere Nutztiere)* **39**: 221-230.
- Ridker P. M., Ohkuma S., McDermott W. V., Trey C., Huxtable R. J. (1985). Hepatic venoocclusive disease associated with the consumption of pyrrolizidine-containing dietary supplements. *Gastroenterology* **88**: 1050-1054.
- RIVM (Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (National Institute for Public Health and the Environment), NL) (2014). Pyrrolizidine alkaloids in herbal preparations. *RIVM Briefrapport* **090437001**.
- Robertson J. and Stevens K. (2017). Pyrrolizidine alkaloids: occurrence, biology, and chemical synthesis. *Natural Product Reports* **34**: 62-89.
- Roeder E. (1992). Pyrrolizidinalkaloid-haltige Arzneipflanzen. *Deutsche Apotheker Zeitung* **45**: 2427-2435.
- Rollason V., Spahr L., Escher M. (2016). Severe liver injury due to a homemade flower pollen preparation in a patient with high CYP3A enzyme activity: a case report. *European Journal of Clinical Pharmacology* **72**: 507-508.

- Ruan J., Yang M., Fu P., Ye Y., Lin G. (2014). Metabolic activation of pyrrolizidine alkaloids: insights into the structural and enzymatic basis. *Chemical Research in Toxicology* **27**: 1030-1039.
- Ruan J., Gao H., Li N., Xue J., Chen J., Ke C., Ye Y., Fu P. P., Zheng J., Wang J., Lin G. (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**: 404-421.
- Ruan J., Liao C., Ye Y., Lin G. (2013). Lack of metabolic activation and predominant formation of an excreted metabolite of nontoxic platynecine-type pyrrolizidine alkaloids. *Chemical Research in Toxicology* **27**: 7-16.
- SANTE (Directorate-General for Health and Food Safety) (2017). Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues and analysis in food and feed. [https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/plant/docs/pesticides\\_mrl\\_guidelines\\_wrkdoc\\_2017-11813.pdf](https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/plant/docs/pesticides_mrl_guidelines_wrkdoc_2017-11813.pdf).
- Stillman A. E., Huxtable R., Consroe P., Kohlen P., Smith S. (1977). Hepatic veno-occlusive disease due to pyrrolizidine (Senecio) poisoning in Arizona. *Gastroenterology* **73**: 349-352.
- Sun Z., Kang J., Zhang Y. (2018). Hepatic veno-occlusive disease related to *Gynura segetum*: A case report. *Medicine (Baltimore)* **97**: e0552.
- Tandon B. N., Tandon R. K., Tandon H., Narndranathan M., Joshi Y. K. (1976). An epidemic of veno-occlusive disease of liver in central India. *The Lancet* **2**: 271-272.
- Teuscher E., Melzig M. F., Lindequist U. (2004). *Biogene Arzneimittel. Ein Lehrbuch der Pharmazeutischen Biologie*. Vol. 6, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart.
- Teuscher E. and Lindequist U. (2010). *Biogene Gifte - Biologie-Chemie-Pharmakologie-Toxikologie*. Vol. 3, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart.
- These A., Bodi D., Ronczka S., Lahrssen-Wiederholt M., Preiss-Weigert A. (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**: 9375-9383.
- Wang C., Li Y., Gao J., He Y., Xiong A., Yang L., Cheng X., Ma Y., Wang Z. (2011). The comparative pharmacokinetics of two pyrrolizidine alkaloids, senecionine and adonifoline, and their main metabolites in rats after intravenous and oral administration by UPLC/ESIMS. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **401**: 275-287.
- White I. N. H., Mattocks A. R., Butler W. H. (1973). The conversion of the pyrrolizidine alkaloid retrorsine to pyrrolic derivatives in vivo and in vitro and its acute toxicity to various animal species. *Chemico-Biological Interactions* **6**: 207-218.
- Wiedenfeld H., Roeder E., Bouraul T., Edgar J. A. (2008). *Pyrrolizidine alkaloids. Structure and toxicity*, V & R Unipress, Göttingen.
- Williams L., Chou M. W., Yan J., Young J. F., Chan P. C., Doerge D. R. (2002). Toxicokinetics of Riddelliine, a carcinogenic Pyrrolizidine Alkaloid, and metabolites in rats and mice. *Toxicology and Applied Pharmacology* **182**: 98-104.
- Wink M. (2019). Quinolizidine and Pyrrolizidine Alkaloid Chemical Ecology - a Mini-Review on Their Similarities and Differences. *Journal of Chemical Ecology* **45**: 109-115.
- Xia Q., Chou M. W., Kadlubar F. F., Chan P. C., Fu P. P. (2003). Human liver microsomal metabolism and DNA adduct formation of the tumorigenic pyrrolizidine alkaloid, riddelliine. *Chemical Research in Toxicology* **16**: 66-73.
- Xia Q., Zhao Y., Von Tungeln L. S., Doerge D. R., Lin G., Cai L., Fu P. P. (2013). Pyrrolizidine alkaloid-derived DNA adducts as a common biological biomarker of pyrrolizidine alkaloid-induced tumorigenicity. *Chemical Research in Toxicology* **26**: 1384-1396.
- Xia Q., Ma L., He X., Cai L., Fu P. P. (2015). 7-Glutathione pyrrole adduct: A potential DNA reactive metabolite of pyrrolizidine alkaloids. *Chemical Research in Toxicology* **28**: 615-620.

- Xia Q., He X., Ma L., Chen S., Fu P. P. (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**: 619-628.
- Xia Q. , Zhao Y. , Lin G., Beland F. A., Cai L., Fu P. P. (2016). Pyrrolizidine alkaloid-protein adducts: potential non-invasive biomarkers of pyrrolizidine alkaloid-induced liver toxicity and exposure. *Chemical Research in Toxicology* **29**: 1282-1292.
- Yang M., Ruan J., Gao H., Li N., Ma J., Xue J., Ye Y., Fu P. P. C., Wang J., Lin G. (2017). First evidence of pyrrolizidine alkaloid N-oxide-induced hepatic sinusoidal obstruction syndrome in humans. *Archives of Toxicology* **91**: 3913-3925.
- Yang M., Ma J., Ruan J., Ye Y., Fu P. P., Lin G. (2019a). Intestinal and hepatic biotransformation of pyrrolizidine alkaloid N-oxides to toxic pyrrolizidine alkaloids. *Archives of Toxicology* **93**: 2197-2209.
- Yang X. Q., Ye J., Li X., Li Q., Song Y. H. (2019b). Pyrrolizidine alkaloids-induced hepatic sinusoidal obstruction syndrome: Pathogenesis, clinical manifestations, diagnosis, treatment, and outcomes. *World Journal of Gastroenterology* **25**: 3753-3763.
- Zhuge Y., Liu Y., Xie W., Zou X., Xu J., Wang J. (2019). Expert consensus on the clinical management of pyrrolizidine alkaloid-induced hepatic sinusoidal obstruction syndrome. *Journal of Gastroenterology and Hepatology* **34**: 634-642.

## Anhang

**Tabelle S1:** Gehalte an 1,2-ungesättigten PA (Summe aus 21 Analyten einschließlich co-eluierender Isomere) in Kräutern/Gewürzen.

	N <sup>1</sup>	<NWG <sup>2</sup> [%]	Mittelwert [µg/kg]	Median [µg/kg]	95. Perzentil [µg/kg]
Beifuß	13	15	53,7	21,9	231,0
Borretsch	8	0	50.493,1	14.546,0	248.060,9
Diverse <sup>3</sup>	24	79	72,4	0	237,1
Liebstockel	22	18	1.710,1	1.073,7	6.255,6
Oregano, Majoran	95	9	4.465,1	1.484,0	18.771,5
Petersilie Blattgewürz	41	54	222,3	0	1.230,8
Petersilienblätter	13	69	1,5	0	14,4
Rosmarin	21	90	3,2	0	6,8
Thymian	21	48	514,3	0,2	381,8 <sup>4</sup>
Kreuzkümmel	1		17.900,0		
Mischungen	68	24	648,0	85,5	3.818,3
Gesamt	327	34	2.905,7	53,3	10.871,1

<sup>1</sup> N = Probenzahl (Gehaltsdaten aus den Lebensmittelüberwachungsprogrammen der Länder, 2015-Mitte 2019); <sup>2</sup>NWG = Nachweisgrenze; <sup>3</sup>Basilikum, Bohnenkraut, Dill, Kerbel, Koriander, Kümmel, Schnittlauch; <sup>4</sup>eine Probe mit einem Gehalt von 9.565,2 µg/kg, 381,8 µg/kg ist der nächstniedrigere Gehalt

## Über das BfR

Das Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) ist eine wissenschaftlich unabhängige Einrichtung im Geschäftsbereich des Bundesministeriums für Ernährung und Landwirtschaft (BMEL). Es berät die Bundesregierung und die Bundesländer zu Fragen der Lebensmittel-, Chemikalien- und Produktsicherheit. Das BfR betreibt eigene Forschung zu Themen, die in engem Zusammenhang mit seinen Bewertungsaufgaben stehen.