

5-HMF-Gehalte in Lebensmitteln sind nach derzeitigem wissenschaftlichen Kenntnisstand gesundheitlich unproblematisch

Stellungnahme Nr. 030/2011 des BfR vom 15. Mai 2011*

Beim Erhitzen von kohlenhydrat- bzw. zuckerhaltigen Lebensmitteln entsteht der Stoff 5-Hydroxymethylfurfural (5-HMF). Erstmals wurde er in den 1950er Jahren in Lebensmitteln nachgewiesen. Die Substanz wird auch als Aromastoff eingesetzt und ist Bestandteil von z.B. Karamel-Farbstoffen und Raucharomen. Das Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) hat den Stoff gesundheitlich bewertet. Das Ergebnis: 5-HMF besitzt kein besonderes ausgeprägtes toxisches Potenzial. Derzeit kann aus den vorliegenden experimentellen Studien hinsichtlich einer krebserzeugenden und erbgutschädigenden Wirkung von 5-HMF keine Relevanz für den Menschen abgeleitet werden.

Das BfR hat die 5-HMF-Aufnahme über verschiedene Lebensmittelgruppen für den Verbraucher abgeschätzt. Allerdings konnten einige Lebensmittel bei der Expositionsabschätzung nicht berücksichtigt werden, da für diese keine oder nicht in ausreichender Menge Gehalts-Daten vorliegen. Die vorliegende Expositionsabschätzung ist dennoch weitestgehend als repräsentativ anzusehen. Sie zeigt, dass der Sicherheitsabstand zu der aus einigen Tierstudien abgeleiteten höchsten Menge an 5-HMF, die zu keinen unerwünschten Effekten mehr führte, in der Regel groß genug ist (mehr als 100), so dass keine gesundheitlichen Risiken für den Menschen erkennbar sind. Eine Ausnahme stellt Trockenpflaumensaft dar, der deutlich höhere 5-HMF-Gehalte enthält. Hinweise auf konkrete Gesundheitsrisiken gibt es aber bislang auch hierfür nicht.

Eine 5-HMF Quelle, der noch nachgegangen werden sollte, sind solche Lebensmittel, die Karamel-Farbstoffe (Zuckerulör) als Zusatzstoffe enthalten. Aus Sicht des BfR sind weitere umfangreiche Gehaltsbestimmungen von 5-HMF in anderen Lebensmitteln nicht vordringlich. Wichtiger erscheinen weiterführende toxikologische Untersuchungen zur grundsätzlichen Abklärung, ob 5-HMF bzw. seine Stoffwechselprodukte eine Bedeutung für die Entstehung von Krebs, vor allem Darmkrebs, haben könnten, wie dies ursprünglich auf der Basis früherer Studien dargestellt wurde.

1 Gegenstand der Bewertung

Das BfR hat anlässlich des wiederholten Nachweises von 5-Hydroxymethylfurfural (5-HMF) in Lebensmitteln ein mögliches gesundheitliches Risiko, das mit seiner Aufnahme über Lebensmittel verbunden sein könnte, bewertet.

2 Ergebnis

5-HMF wird bei der thermischen Behandlung von Lebensmitteln als ein Produkt der Maillard-Reaktion gebildet. Es kommt daher in vielen Lebensmitteln vor. Die geschätzten Aufnahmemengen liegen im Bereich von 4 bis 30 mg pro Person und Tag. In einigen Lebensmitteln, z.B. Getränken aus Trockenpflaumen, wird 5-HMF in relativ hohen Konzentrationen gefunden. Abschätzungen für die tägliche Aufnahme reichen hier bis zu 350 mg pro Person.

Aus tierexperimentellen Langzeituntersuchungen geht hervor, dass die höchste Dosis, bei der keine unerwünschten Veränderungen mehr beobachtet wurden, im Bereich von 80-100 mg/kg Körpergewicht (KG) und Tag liegt.

* Grundlage der Stellungnahme ist die gesundheitliche Bewertung des BfR zu 5 HMF vom 12. Juni 2010.

Diese wurde unter Berücksichtigung neuer Informationen zu 5-HMF in Karamel-Farbstoffen aktualisiert.

Untersuchungen zur *in-vitro* Gentoxizität waren dann positiv, wenn die metabolischen Voraussetzungen zur Bildung des reaktiven Metaboliten 5-Sulfooxymethylfurfural (SMF) gegeben waren. Die verfügbaren *in vivo* Gentoxizitätsbefunde waren negativ.

Die in Kurzzeituntersuchungen an Ratten und Mäusen zur Induktion neoplastischer Veränderungen im Intestinaltrakt erhaltenen Ergebnisse für 5-HMF können nicht als sicher „kanzerogen wirksam“ interpretiert werden. Neuere Kurzzeituntersuchungen waren negativ. In der einzigen Kanzerogenitäts-Untersuchung mit Ratten und Mäusen über zwei Jahre wurden durch 5-HMF außer Leberadenome bei weiblichen Mäusen, deren Relevanz das BfR als zweifelhaft ansieht, keine Tumore bzw. deren Vorstufen induziert.

Bislang kann aus den Ergebnissen vorliegender experimenteller Studien hinsichtlich kanzerogener und gentoxischer Wirkungen keine Bedeutung für den Menschen abgeleitet werden. Das sonstige toxische Potenzial ist eher gering ausgeprägt und vorliegende Sicherheitsabstände zu bestehenden Expositionshöhen sind ausreichend. Beim Verzehr von Trockenpflaumensäften liegt immerhin noch ein Sicherheitsabstand von etwa 20 vor. Somit kann das BfR mögliche Risiken von 5-HMF derzeit nicht erkennen bzw. schätzte diese, falls überhaupt vorhanden, als sehr gering ein.

3 Begründung

Seit den 1950er Jahren wird über das Vorkommen von 5-HMF (CAS Nr. 67-47-0) in Lebensmitteln berichtet. 5-HMF entsteht während des Erhitzens von kohlenhydrathaltigen Lebensmitteln. Reaktanten sind reduzierende Hexosen in Anwesenheit von Aminosäuren oder Proteinen (Maillard Reaktion). Außerdem wird 5-HMF über eine Säure-katalysierte thermale Dehydration aus Fruktose, Saccharose und in einem geringeren Ausmaß auch aus Glukose gebildet. 5-HMF wurde auch in hitzesterilisierten Glukose/Fruktose-Lösungen für die parenterale Ernährung nachgewiesen. Außerdem wird 5-HMF als Aromastoff in Lebensmitteln eingesetzt und kommt in Holzrauch und in Raucharomen vor (Morales 2009).

3.1 Gefährdungspotenzial von 5-HMF

3.1.1 Toxikokinetik und Metabolismus

Bisher konnten für 5-HMF mehrere metabolische Wege nachgewiesen werden. Der primäre Schritt beinhaltet die Oxidation der Aldehyd-Funktion zur Carbonsäure (HMFA). Danach erfolgt die Konjugation mit Glycin zu 5-Hydroxymethyl-2-furoyl-glycin (HMFG). Beide Hauptmetabolite, HMFA und HMFG, werden schnell im Urin ausgeschieden. Das Verhältnis der Konzentrationen von HMFA/HMFG erhöht sich bei höheren 5-HMF-Dosen, da die Verfügbarkeit von freiem Glycin limitiert ist. Dies resultiert in der vermehrten Exkretion von freier HMFA und/oder 2,5-Furandicarbonsäure (FDCA).

Mäusen und Ratten wurde radioaktiv (^{14}C)-markiertes 5-HMF oral sowie Ratten i.v. appliziert. Nach einer schnellen Resorption wurde die Radioaktivität schnell und nahezu vollständig innerhalb von 24-48h über den Urin ausgeschieden. Ganzkörper-Autoradiographie bestätigte, dass sich kurz nach Applikation Radioaktivität in der Leber befand, deutlich mehr jedoch in Niere und Blase. Als einziger bedeutender Unterschied zwischen p.o. und i.v. Anwendung wurde eine höhere Menge an Radioaktivität im Gehirn von i.v. behandelten Tieren gesehen (Germond et al., 1987).

Relativ niedrige Level nicht extrahierbarer Radioaktivität wurden in Leber, Niere und im Dünndarm gefunden, was eventuell auf eine kovalente Bindung hinweisen könnte (Godfrey

et al., 1999). Die Autoren identifizierten und quantifizierten HMFA, HMFG und FDCA im Urin von Ratten und Mäusen in Mengen von 78-85 %, 5-8 % bzw. 2-6 % in Bezug auf die angewendete Dosis. Die Ausscheidungsrate war nicht abhängig von der Höhe der Dosierung. Da eine nahezu komplette Ausscheidung von 5-HMF und seinen Metaboliten erfolgte, kann eine Akkumulation der Verbindungen auf der Basis dieser Befunde nicht konstatiert werden.

Beim Menschen wurden im Urin bisher HMFA, HMFG und FDCA (unter anderem nach i.v. Applikation von Fructose-haltigen Infusions-Lösungen zur parenteralen Ernährung) nachgewiesen (Petterson and Jellum, 1972; Jellum et al., 1973). Pryor et al. (2006) konnten HMFA, HMFG, CAFG (5-Carboxylic-2-furoyl-glycin) und CAFAM (5-Carboxylic-2-Furoylamino-Methan) im Urin von Personen nachweisen, die getrocknete Pflaumen bzw. den Saft aus getrockneten Pflaumen verzehrten. Bei Personen, die 3944 μmol (497 mg) 5-HMF mit dem Saft aufnahmen, betrug 6 Stunden nach dem Konsum die Wiederfindungsrate für HMFA 36.9 %, HMFG 3,4 %, CAFG 4.2 % und CAFAM 1.9 % der applizierten 5-HMF-Dosis. Das Verhältnis von HMFA/HMFG im Urin betrug 10,7. Diese Befunde beim Menschen sind vergleichbar mit den tierexperimentellen Ergebnissen von Godfrey et al. (1999) und Germond et al. (1987). Allerdings wurden die Metabolite CAFG und CAFAM bei der Ratte nicht beobachtet. Beim Menschen wurde dagegen FDCA nicht nachgewiesen.

Der in jüngster Zeit in den Vordergrund des Interesses gerückte metabolische Weg zur Bioaktivierung – die Sulfonierung der allylischen Hydroxyl-Funktion von 5-HMF durch Sulfotransferasen (SULTs) – konnte zunächst *in-vitro* identifiziert werden. Der resultierende Sulfat-Ester 5-Sulfooxymethylfurfural (SMF) kann über ein hoch elektrophiles Allyl-Carbocation genotoxische und mutagene Wirkungen induzieren. Die Bildung von SMF konnte kürzlich auch *in vivo* bei der FVB/N Maus belegt werden. Nach i.v. Applikation von 793 μmol 5-HMF/kg KG wurde eine biphasische Eliminations-Kinetik im Plasma beobachtet mit einer HWZ von 1,7 min und 28 min für die initiale bzw. terminale Eliminationsphase. Das Maximum des SMF-Plasma-Levels wurde 2,5 min nach 5-HMF-Applikation erreicht. Es wurde geschätzt, dass zwischen 452 und 551 ppm (ca. 0,5 Promille) der HMF-Dosis zu SMF umgewandelt wurde und die Zirkulation erreichte (Monien et al., 2009). Es ist wahrscheinlich, dass SMF zu einem gewissen Anteil mit zellulären Strukturen am Entstehungsort reagiert. Deshalb kann seine Gesamtmenge auch nicht quantifiziert werden. Bisher gibt es keine Belege, dass SMF auch beim Menschen aus 5-HMF gebildet werden kann. Im menschlichen Urin wurde SMF bisher nicht nachgewiesen, was wegen seiner Instabilität plausibel ist (Murkovic und Pichler, 2006).

3.1.2 Gentoxizität und Mutagenität

5-HMF selbst ist überwiegend negativ in *in-vitro* Gentoxizitäts-Tests, es ist jedoch mutagen in Anwesenheit der cytosolischen Fraktion der Rattenleber mit PAPS als Kofaktor für Sulfotransferasen (SULT) sowie in genetisch veränderten Bakterien und Säugerzellen, die die menschliche SULT 1A1 exprimieren (Florin et al., 1980; Aeschbacher et al., 1981; Omura et al., 1983; Surh et al., 1994; Surh & Tannenbaum, 1994; Lee et al., 1995b; Shinohara et al., 1986; Kim et al., 1987b; Majeska & McGregor, 1992; Janzowski et al., 2000; Nishi et al., 1989).

SULT von Ratten und menschliche SULT biotransformieren 5-HMF zum reaktiven Allylester SMF. Die Substanz ist mutagen in Bakterien und Säugerzellen *in-vitro* ohne aktivierendes System (Surh & Tannenbaum, 1994). SMF wird durch GSH in Anwesenheit von GSH-Transferasen inaktiviert. Ein genotoxischer Effekt in *Salmonella typhimurium* TA 104 in Abwesenheit eines metabolischen Systems konnte durch Zusatz von GSH und GST reduziert werden (Lee et al., 1995).

5-HMF ist im *in-vitro* Mikrokerntest mit HepG2-Zellen, die SULT exprimieren, negativ (Severin et al. 2010). Im *in-vitro* Comet-assay ist 5-HMF in verschiedenen Zelllinien (mit unterschiedlicher SULT-Aktivität) schwach positiv, allerdings nur in hohen Konzentrationen (25-100 mM), die auch zytotoxisch sind (Durling et al. 2009). In HepG2-Zellen induzierte 5-HMF auch bei niedrigeren Konzentrationen (8-25 mM) im Comet-Assay DNA-Schäden (Severin et al. 2010). Diese getesteten Konzentrationen waren aber ebenfalls noch vergleichsweise hoch (üblicherweise wird nur bis zu einer Konzentration von 10 mM getestet).

In-vivo hat 5-HMF im Mikrokerntest mit peripheren Blutzellen von männlichen und weiblichen B6C3F1-Mäusen, denen 5-HMF über 90 Tage oral per Gavage in Dosierungen von 0, 47, 94, 188, 375 und 750 mg/kg Körpergewicht und Tag verabreicht wurde, keine Mikrokerne induziert (NTP 2010). Das PCE/NCE-Verhältnis war nicht verändert, was keine Aussage darüber ermöglicht, ob die Substanz das Knochenmark erreicht hat. Das Studiendesign entsprach hinsichtlich der Applikationsdauer nicht dem Standardprotokoll, ist aber dennoch akzeptabel. SMF war im Mikrokerntest an Mäusen positiv (Dahlberg 2004). Diese beiden Studien sind allerdings nicht direkt vergleichbar, weil sie mit unterschiedlichen Mäusestämmen und Behandlungsprotokollen durchgeführt wurden.

3.1.3 Tierexperimentelle Untersuchungen zur akuten und subchronischen Toxizität

Die akute Toxizität von 5-HMF ist sehr gering. In einer Studie an Ratten wurde eine akute orale LD₅₀ von 3100 mg/kg KG ermittelt. Für Mäuse ergab sich eine LD₅₀ von 1910 und in einer anderen Untersuchung eine von > 2000 mg/kg KG (zitiert in Ulbricht et al., 1984).

Ratten erhielten 250 mg/kg KG 5-HMF 40 Wochen hindurch verfüttert. Bezüglich Gewichtszunahme, Futtermittelverzehr und Endgewicht ergaben sich keine signifikanten Unterschiede gegenüber Kontrolltieren. Auch die histologische Untersuchung verschiedener Organe wie z.B. Leber, Herz, Niere ergab keine Unterschiede zwischen den beiden Gruppen (Lang et al., 1970).

In einer Langzeitstudie erhielten Ratten 0, 40, 80 oder 160 mg 5-HMF/kg KG an 6 Tagen pro Woche über 11 Monate. Protein- und Lipidstoffwechsel, Ascorbinsäuregehalt der Nebennieren, Aktivität der hepatischen Succinat-Dehydrogenase, Organmorphologie und Körpergewicht waren im Vergleich zu den Kontrollen unverändert. Bei 160 mg/kg KG zeigten sich jedoch geringe Veränderungen klinisch-chemischer Parameter (ein temporärer Anstieg des gamma-Globulin-Spiegels im Serum und ein tendentieller Anstieg der Aktivität der Leber-Tributyrase) sowie eine Zunahme des relativen Milz-Gewichtes. 40 und 80 mg/kg KG waren ohne Effekt (Zaitzev et al., 1975 zitiert in Ulbricht et al., 1984).

In einer Untersuchung mit Mäusen über drei Monate im Rahmen der NTP-Studien ergab sich in der höchsten Dosierung von 750 mg/kg KG eine signifikant geringere Körpergewichtszunahme gegenüber den Kontrollen. Effekte in Form von geringen bis milden cytoplasmatischen Veränderungen der Niere waren signifikant bei den männlichen Tieren in den Dosen von 188 mg/kg KG (5 mal pro Woche) und darüber erhöht. Bei 94 mg/kg KG (5 mal pro Woche) und darunter wurden keine Wirkungen mehr beobachtet (NTP, 2010).

Somit liegt die tierexperimentell abgeleitete höchste Dosis ohne unerwünschte Wirkung in einem Bereich von 80-100 mg/kg KG.

3.1.4 Tierexperimentelle Untersuchungen zur Karzinogenität

Erhitzte Saccharose promoviert Azoxymethan initiierte Mikroadenome im Darm von Mäusen und Ratten

Bei der Bewertung von 5-HMF bzw. seines reaktiven Allylesters SMF spielt eine mögliche kanzerogene Wirkung die wesentliche Rolle; dabei steht insbesondere die Entstehung von Darmtumoren im Vordergrund der Diskussion. Corpet et al. (1990) untersuchten eine tumorpromovierende Wirkung nach Initiierung mit Azoxymethan bei CF1-Mäusen und Fisher344-Ratten, denen unterschiedliche Nahrungs-Komponenten, die auf 180°C erhitzt wurden, verfüttert wurden. Nach 100 Tagen wurde eine signifikant höhere Zahl von großen Mikroadenomen des Darms beobachtet bei Tieren, die erhitzten (karamellisierten) Zucker bzw. erhitztes Kasein und Fett bekommen hatten (im Vergleich zu Kontrolltieren mit der gleichen, jedoch nicht erhitzten Nahrung). Fünf weitere erhitzte Nahrungs-Komponenten hatten keinen signifikanten Effekt. Die Autoren vermuteten, dass durch den Erhitzungsprozess Verbindungen entstehen, die Promotoren von Dickdarm-Krebs sind; zur Frage, welche Verbindungen dies sind, konnte die Studie keine Aussage machen.

5-HMF induziert und promoviert präneoplastische Läsionen im Dickdarm der Ratte

Von der gleichen Arbeitsgruppe wurde eine HPLC-Analyse des leicht karamellisierten Zuckers durchgeführt, bei der ein Gehalt von 1 % 5-HMF als quantitativ wichtigstes Reaktionsprodukt gefunden wurde (Archer et al. 1992). Bei einer anschließend durchgeführten tierexperimentellen Untersuchung wurden Fisher344-Ratten erneut mit Azoxymethan vorbehandelt und in vier Gruppen aufgeteilt. Die Kontrollgruppe erhielt unbehandelten Zucker, weitere Gruppen erhielten erhitzten Zucker, erhitzten Zucker ohne 5-HMF (Butanol-Extraktion) bzw. Nahrung mit 1 %igem Zusatz von 5-HMF. Dabei wurden die Ergebnisse der ursprünglichen Untersuchung (erhitzte Saccharose) bestätigt, während erhitzter Zucker, dem durch Extraktion 5-HMF entzogen worden war, keinen Effekt zur Folge hatte. In der Gruppe, die Nahrung mit 1 % 5-HMF erhalten hatte, zeigten sich im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant sowohl durchschnittlich größere ACF (Aberrant Crypt Foci, Vorstufe von Mikroadenomen) als auch eine höhere Zahl von großen ACF. Bei daraufhin durchgeführten zusätzlichen Untersuchungen mit in Wasser gelöstem 5-HMF (zweimal im Abstand von einer Woche sondiert, Dosierungen von 100 bis 300 mg/kg KG, keine Vorbehandlung mit Azoxymethan, Auswertung nach 30 Tagen) zeigte sich ein signifikanter Anstieg der Dosis-Wirkungskurve für die Anzahl der ACF pro Dickdarm sowie für den Anteil der Tiere mit ACF. Es wurde damit gezeigt, dass 5-HMF nicht nur ein promovierendes, sondern auch ein initiiertes Potenzial für die Auslösung von Dickdarm-Krebs besitzen könnte. Einschränkend muss in Bezug auf die Aussagekraft festgestellt werden, dass das Untersuchungsdesign Schwächen aufweist (3 separate Untersuchungen mit unterschiedlicher Tierzahl, dabei zweimal deutlich höhere ACF-Zahlen bei den Kontrollen als bei der dritten Untersuchung; Wahl der Dosis-Gruppen nicht überzeugend), wodurch eine komplexere Gesamtauswertung erforderlich wurde (Zhang et al. 1993).

Untersuchungen mit transgenen Mäusen (Min/+)

Ein ähnliches Ergebnis wurde auch mit Mäusen erzielt. Svendsen et al. (2009) behandelten C57BL/6J-Mäuse (Wt/Wt) kurz nach der Geburt mit einer einmaligen subkutanen Injektion von 5-HMF (500 mg/kg KG). Bei der Untersuchung der Tiere im Alter von 12 Wochen zeigten sich bei 4 von 18 Tieren (22 %) „flache“ ACF, die bei keinem der Kontrolltiere (keine Behandlung) beobachtet wurden. Die Autoren bewerteten das Ergebnis aber als nicht signifikant, machten jedoch keine Angaben zur generellen Inzidenz von „flachen“ ACF bei unbehandelten Tieren; sollte diese Gewebe-Veränderung selten spontan auftreten, ist das Ergebnis möglicherweise anders zu bewerten.

Mit gleichem Design wurde auch eine genetische Variante der Tiere (C57BL/6J Min/+) untersucht, die besonders sensitiv für das Auftreten von multiplen intestinalen neoplastischen Veränderungen ist. Dabei zeigte sich bei den behandelten Tieren eine höhere Zahl von Adenomen im Dünndarm als bei den unbehandelten Tieren (Mittelwert 119 bzw. 102). Die Differenz in der Anzahl war jedoch nur signifikant, wenn die Auswertung nur für den mittleren und distalen Dünndarmteil (15-26 cm ab Magen) vorgenommen wurde ($p=0,033$); diese Form der erst nach histologischer Auswertung erfolgten Festlegung auf ein bestimmtes Darmareal ist unter methodisch-statistischen Gesichtspunkten als problematisch anzusehen und eignet sich primär zur Hypothesenbildung (z.B. erst in einem bestimmten Darmabschnitt Aktivierung von 5-HMF zu kanzerogenen Metaboliten). Im Dickdarm zeigte sich eine gegenüber Kontrollen höhere Zahl von „flachen“ ACF (Mittelwert 32 bzw. 21), die jedoch nicht signifikant war; auch bei den Adenomen im Dickdarm zeigte sich keine signifikante Differenz.

NTP-Studien

Die Bedeutung der dargestellten Kurzzeitmodelle (Adenom/ACF-Bildung nach relativ kurzzeitiger Exposition bei Ratten und Mäusen und speziell bei diesbezüglich besonders empfindlichen C57BL/6J Min/+ Mäusen) für die Beurteilung des möglichen Gefährdungspotenzials zur Bildung von Darmkrebs ist unklar. Eine bessere Abklärung dieses Potenzials konnte von der erst vor wenigen Jahren durchgeführten NTP-Studie („National Toxicology Program“ der USA; NTP, 2010) erwartet werden. Bei den 2-Jahres-Untersuchungen an F344/N-Ratten und B6C3F1-Mäusen erhielten Gruppen von jeweils 50 weiblichen und 50 männlichen Tieren jeweils 0, 188, 375 oder 750 mg 5-HMF/ kg KG an fünf Tagen pro Woche über eine Magensonde appliziert.

Bei den Ratten war die Überlebensrate der 188- und der 750-mg/kg-Gruppe höher als die der Kontrollgruppe. Bei der Entwicklung der Körpergewichte zeigten sich keine Auffälligkeiten zwischen den Gruppen. Am Riechepithel der Ratten wurden degenerative Effekte beobachtet; zudem zeigten sich dort Metaplasien bei beiden Geschlechtern in der höchsten Dosisgruppe. Als einzige weitere behandlungsbezogene, nicht-neoplastische Schädigung wurde eine signifikant höhere Inzidenz von „clear cell foci“ der Leber bei den männlichen Ratten der höchsten Dosis-Gruppe beobachtet.

Bei den Mäusen zeigte sich in der höchsten Dosisgruppe bei beiden Geschlechtern eine signifikant gegenüber der Kontrolle verminderte Überlebensrate; zudem wurde eine geringere Gewichtszunahme festgestellt. Veränderungen im Bereich des Respirationstraktes ähnelnden bei Ratten beobachteten Veränderungen wurden bei Mäusen in den Dosisgruppen 375 und 750 mg/kg KG gefunden. Beginnend mit Monat 8 wurden in der höchsten Dosisgruppe bei beiden Geschlechtern neurologische Symptome innerhalb der ersten Minuten nach Applikation beobachtet (u.a. vermindertes Explorationsverhalten, Speichelfluss, Katatonie, Erregungszustände, Atemnot, klonisch-tonische Krampfanfälle und Bewusstlosigkeit). Aufgrund dieser klinischen Symptomatik und der verminderten Überlebensrate in der höchsten Dosisgruppe wurden diese Tiere von der Auswertung des kanzerogenen Potenzials ausgeschlossen.

Das Gesamtergebnis wurde als „some evidence of carcinogenic activity“ von 5-HMF bei weiblichen B6C3F1-Mäusen eingestuft, basierend auf erhöhten Inzidenzen hepatozellulärer Adenome von 53 % in der Dosis-Gruppe 188 mg/kg KG und von 52 % in der Gruppe 375 mg/kg KG. In der Kontrollgruppe betrug die Inzidenz 28 %; generell ist hier anzumerken, dass die historischen Kontroll-Daten für hepatozelluläre Adenome in weiblichen B6C3F1 Mäusen im Durchschnitt hoch liegen (bei ca. 22 %). Keine Evidenz einer tumorigenen Wirkung wurde bei Ratten und bei männlichen Mäusen gefunden.

Die in Kurzzeitstudien beobachteten Hinweise auf ein kanzerogenes Potenzial in Bezug auf die Darmkrebs-Bildung durch 5-HMF bei Nagetieren konnten in der NTP-Langzeitstudie nicht bestätigt werden.

Verschiedene Studien mit SMF und 5-HMF

Bei einem möglichen carcinogenen Potenzial von 5-HMF fokussiert sich die Diskussion insbesondere auf den reaktiven Metaboliten SMF.

So initiierte SMF bei topischer Applikation auf die Mäusehaut eine höhere Inzidenz an Papillomen als 5-HMF selbst (Surh et al., 1994). Mit subkutaner Applikation wurde SMF in der bereits erwähnten Studie von Svendsen et al. (2009) untersucht. Die Dosis betrug einmalig 25 mg/kg KG (1/20 der 5-HMF-Dosis). Dabei fanden sich vergleichbare Ergebnisse wie bei 5-HMF: erhöhte Inzidenz (2 von 15 Mäusen, 13 %) bei den wild-type Tieren, die nicht gegenüber den Kontrolltieren signifikant war. Mit der besonders sensitiven genetischen Variante, der C57BL/6J Min/+ Maus, wurde ebenfalls eine erhöhte Anzahl von Dünndarm-Adenomen und „flachen“ ACF im Dickdarm erhalten, jedoch mit fehlender bzw. grenzwertiger Signifikanz.

Die hohe Toxizität von SMF wurde von der Arbeitsgruppe Prof. Glatt (DIfE-Potsdam-Rehbrücke) dokumentiert: SMF wurde FVB/N-Mäusen einmalig in einer hohen Dosis von 250 mg/kg Körpergewicht intraperitoneal appliziert; danach starben die meisten Tiere innerhalb von 5-11 Tagen infolge massiver Schädigung der proximalen Tubuli (Bauer-Marinovic et al. 2010). Hierbei spielt möglicherweise die durch die Transporter OAT1 and OAT3 vermittelte Aufnahme von SMF in proximale Tubuluszellen der Niere eine Rolle (Bakhiya et al. 2009). Bei Anschlussuntersuchungen mit verschiedenen niedrigeren Dosen mit Beobachtungszeiträumen bis zu 40 Wochen zeigten sich ebenfalls Veränderungen der Nieren-Tubuli als wesentlicher Effekt, zudem wurde Hepatotoxizität und Serositis an Organen mit direktem Kontakt zum Peritoneum beobachtet. Dagegen konnten keine ACF und/oder Adenocarcinome in den mit SMF behandelten Tieren gefunden werden. Bei einer Positiv-Kontrolle (20 mit Azoxymethan-behandelte Tiere) wurden jedoch insgesamt 1064 ACF und 5 Adenocarcinome beobachtet (Florian et al. 2010).

Sollte SMF für eine mögliche Kanzerogenität von 5-HMF verantwortlich sein, stünde die Frage der Aktivität der jeweiligen Sulfotransferasen bei verschiedenen Spezies im Mittelpunkt. Vom Menschen ist bekannt, dass die wichtigste Sulfotransferase, SULT1A1, eine deutlich höhere enzymatische Aktivität in Bezug auf 5-HMF hat als die untersuchten Sulfotransferasen von Nagetieren (Glatt und Sommer 2006). Daher könnte der Mensch empfindlicher in Bezug auf toxische Wirkungen von 5-HMF sein und Labornager wären nicht die idealen Spezies zur Klärung der aufgeworfenen Fragen. Zur Erhellung dieser Frage wurden transgene Mäuse untersucht, die zusätzliche Kopien des humanen SULT1A1-SULT1A2-Gen-Clusters im Chromosom 9 tragen (FVB/N-hSULT1A1/2 Mäuse). Dadurch konnten in unterschiedlichen Geweben (inklusive Dickdarm-Mukosa) eine 3 bis 12-fach höhere Aktivität der Sulfotransferase erzielt werden (Florian et al. 2010).

In der Untersuchung erhielten die FVB/N-hSULT1A1/2 Mäuse sowie Wild-Typ Mäuse (FVB/N) 5-HMF mit dem Trinkwasser in einer Dosis von 0 (Kontrolle), 134 bzw. 536 mg/kg KG für 12 Wochen. Das Experiment bestand aus 48 5-HMF-behandelten Tieren und 24 unbehandelten Kontrolltieren. Bei der Auswertung wurden lediglich leichte histologische Gewebeveränderungen an den Nieren beobachtet, die überraschenderweise nicht different zwischen den Mäusen mit hoher Sulfotransferase-Aktivität und den Wild-Typ Mäusen waren. Erstaunlicherweise wurden jedoch auch keine ACF oder Tumoren beobachtet, weder bei den

Kontrolltieren noch bei den behandelten Tieren mit hoher bzw. niedriger Sulfotransferase-Aktivität (Florian et al. 2010).

3.1.5 Bewertung der möglichen Kanzerogenität von 5-HMF

Bei der Bewertung von 5-HMF steht die Frage der möglichen Kanzerogenität im Vordergrund. Die Inzidenz kolorektaler Karzinome variiert weltweit bis zu 25-fach zwischen verschiedenen Staaten. Mit zunehmender Industrialisierung und Urbanisierung steigen die Raten an. Dies impliziert, dass der jeweilige Lebensstil eine wichtige Rolle für die Entstehung von Darmkrebs spielen könnte; auch Ergebnisse aus Migrantenstudien weisen darauf hin (World Cancer Research Fund, 2007). Es gibt jedoch nur eine kleine Anzahl von Chemikalien, die Kolonkrebs beim Labornager induziert, wie z. B. Heterozyklische Aromatische Amine (PhIP). Es war deshalb überraschend, dass erhitzte Saccharose Azoxymethan-initiierte Präneoplasien im Kolon von Ratten und Mäusen promovierte (Corpet et al., 1990). Als mögliche aktive Komponente der erhitzten Saccharose wurde 5-HMF identifiziert (Zhang et al 1993). Des Weiteren wurde gezeigt, dass offenbar auch 5-HMF selbst – ohne vorherige Behandlung mit Azoxymethan – in der Lage war, eine erhöhte Anzahl von präneoplastischen ACF zu induzieren (Zhang et al., 1993). Diese Initiation implizierte die Induktion von Genmutationen in der Kolon-Mukosa durch 5-HMF. So haben z.B. Femia et al. (2008) K-Ras Mutationen zu 100 % (14/14) in ACF nachgewiesen, die im Ratten-Colon durch 1,2-Dimethylhydrazin induziert wurden.

5-HMF selbst ist nicht mutagen. Jedoch besitzt sein Metabolit SMF, der bei entsprechenden metabolischen Voraussetzungen gebildet wird, ein mutagenes Potenzial. Die entscheidende Frage ist nun, ob dieser Metabolit *in-vivo* entsteht und für die Induktion der präneoplastischen ACF in Ratten, die mit 5-HMF behandelt wurden, verantwortlich ist. Dies konnte bisher noch nicht geklärt werden.

Die Frage wurde in mehreren Experimenten, in denen allerdings Mäuse statt Ratten verwendet wurden, geprüft. *In-vivo* konnte mittlerweile SMF im Plasma von Mäusen nachgewiesen werden, denen 5-HMF i.v. appliziert wurde (ca. 0,5 Promille der i.v. applizierten 5-HMF-Dosis). Des Weiteren wurden transgene Mäuse eingesetzt, die einen hohen Level an menschlichen SUL1A1 und 1A2 exprimieren, und zwar in vielen Geweben einschließlich des Kolons. Diese genetische Modifikation führt zu einem klaren Anstieg der 5-HMF Sulfatierung zu SMF, nachgewiesen in subzellulären Präparationen von Kolon-Mukosa und anderen Geweben. Nach Verabreichung über das Trinkwasser dürfte 5-HMF die Kolon-Mukosa von der luminalen Seite her erreichen und direkt im Ziel-Gewebe aktiviert werden. Falls eine Resorption erfolgt, würde 5-HMF die Kolon-Mukosa auf systemischen Wege erreichen. In diesem Kurzzeitexperiment induzierte 5-HMF allerdings keine präneoplastischen ACF, weder in transgenen und noch in Wild-Typ Mäusen.

Diese negativen Ergebnisse für 5-HMF waren überraschend, da die Gesamt-Exposition in dieser Kurzzeitstudie wesentlich höher war als jene Exposition, die positive Ergebnisse in der Ratten-Studie von Zhang et al (1993) zeigte. Ob hier ausgeprägte Spezies-Unterschiede eine Rolle spielen könnten, ist nicht klar. Hinweise liegen nicht vor. Es ist darauf hinzuweisen, dass die Spontan-Raten an ACF in der Zhang Studie (1993) zwischen den Experimenten variierten und dass die Zahlen von ACF bei 5-HMF-behandelten Tieren nur leicht über der Spontan-Rate lagen. In der Veröffentlichung ist außerdem nicht klar beschrieben, wie die statistischen Analysen ausgeführt wurden.

In der einzigen Langzeitstudie im Rahmen des National Toxicology Program an Ratten und Mäusen zeigte 5-HMF keine neoplastischen oder andere nicht-neoplastischen Effekte im

Intestinal-Trakt beider Spezies. Jedoch wurde eine erhöhte Inzidenz von hepatozellulären Adenomen in weiblichen Mäusen in Dosen von 188 und 375 mg/kg beobachtet. Die Inzidenz war aber nicht dosisabhängig und der B6C3F1 Stamm ist bekannt für seine genetisch bedingte hohe Suszeptibilität zur Bildung von Lebertumoren. Keine carcinogene Evidenz wurde in männlichen Mäusen und in Ratten beiderlei Geschlechts gesehen.

In einer weiteren Studie, durchgeführt mit neugeborenen Min/+Mäusen, erhöhte 5-HMF (subcutan) die Zahl der Adenome im Dünndarm, wohingegen SMF die Zahl von sog. „flat ACF“ im Dickdarm erhöhte (Svendsen et al., 2009). Beide Effekte wurden als statistisch signifikant in Relation zur Vehikel-Kontrolle angegeben. Dies ist jedoch methodisch als problematisch anzusehen, weil eine Auswertung nur in Bezug auf bestimmte Darmabschnitte erfolgte. Diese positiven Effekte waren möglicherweise auch bedingt durch die hohe Sensitivität in diesem speziellen empfindlichen Modell. Die Min/+Maus ist heterozygot für eine Mutation im Tumor-Suppressor-Gen *Apc*, was spontan zur Entwicklung von zahlreichen Adenomen führt, hauptsächlich im Dünndarm, aber auch im Dickdarm. Außerdem wurden die Test-Substanzen den neugeborenen Tieren subcutan verabreicht, was eine artifizielle Aufnahme darstellt.

Zusammenfassend lassen diese Ergebnisse Zweifel aufkommen, ob 5-HMF überhaupt ein kanzerogenes Potenzial besitzt. In der Zwei-Jahresstudie mit Ratten und Mäusen wurden Lebertumore nur bei weiblichen Mäusen beobachtet. Jedoch zeigt der verwendete Mäusestamm (B6C3F1) eine hohe Spontan-Tumorrates; bei weiblichen Tieren beträgt die durchschnittliche Inzidenz für Lebertumoren ca. 22 %. Eine Dosisabhängigkeit war nicht gegeben. Des Weiteren ergaben sich bisher keine sicheren Belege, dass 5-HMF Tumoren im Dick- oder Dünndarm induziert. Welche gentoxische Bedeutung dem *in-vivo* in sehr geringen Mengen nachgewiesenen Metaboliten SMF zukommt, bleibt vorerst offen. Eine Verifizierung seines Nachweises *in-vivo* erscheint sinnvoll. Aus den vorliegenden Ergebnissen sind mögliche Risiken hinsichtlich kanzerogener Wirkungen, wenn überhaupt vorhanden, derzeit nicht erkennbar bzw. nur als äußerst gering einzuschätzen.

3.2 Exposition gegenüber 5-HMF

3.2.1 Gehalte von 5-HMF in Lebensmitteln

Die Gehalte von 5-HMF in den einzelnen Lebensmittelgruppen und auch innerhalb eines Lebensmittels können je nach Verarbeitung stark divergieren. Um die Variabilität möglichst repräsentativ erfassen zu können, sollten grundsätzlich ausreichend Messungen in einem Lebensmittel vorliegen. Informationen zu detaillierten Zubereitungs- und Herstellungsprozessen, mit denen Gehalte an 5-HMF in den Lebensmitteln genau abgeschätzt werden könnten, werden weder auf Seiten der Verzehrdaten (Befragung der Teilnehmer) noch in den Gehaltsdaten systematisch erhoben/dokumentiert. Daraus ergeben sich für die Aufnahmeschätzung nicht quantifizierbare Unsicherheiten (s. auch Tab. 1 und 2).

Aufgrund der geringen Anzahl an Messungen im Lebensmittelmonitoring hat das BfR Überwachungsdaten der Länder mit in seine Abschätzung des 5-HMF-Gehalts von Lebensmitteln einbezogen (Ausschluss von Verdachts-/ Verfolgs- und Beschwerdeproben). Nach Auswertung der Daten konnten jedoch keine Unterschiede zwischen Monitoring- und Überwachungsdaten und somit auch keine Verzerrungen festgestellt werden. Für Werte unterhalb der Bestimmungsgrenze (BG) oder Nachweisgrenze (NG) wurde jeweils die halbe BG bzw. NG als Wert angenommen.

In die Berechnung der HMF-Aufnahme wurden nur Lebensmittel einbezogen, von denen mind. 10 Gehalts-Messungen in den BVL-Daten vorlagen. Lebensmittel, für die weniger als 20 Messungen vorlagen, sind in der Übersicht hervorgehoben, da hier erhebliche Unsicherheiten bezüglich der Repräsentativität der Gehalte vorliegen (Tab.1).

Tabelle 1: Mittlere und hohe HMF-Gehalte verschiedener Lebensmittel in mg/kg (BVL-Daten 2005-2010)

Lebensmittel	n	<BG	Gehalt in mg/kg		Unsicherheiten/ Beschreibung
			MW	95. Perz.	
Honig	726	10 %	9,1	26,1	Wert für Blütenhonige- und Mischungen, da am häufigsten verzehrt
Apfelsaft	234	12 %	7,4	37,3	
Orangensaft	10	0 %	0,4	0,6	Wenig Messungen
Mehrf Fruchtnektar	16	19 %	40,9	194,9	Wenig Messungen
Ananassaft	29	24 %	2,6	7,7	
Traubensaft	80	9 %	6,3	12,7	rot und weiß
Beerensaft	11	9 %	5,7	10,0	wenig Messungen, Beerensorten nicht bekannt
Pflaumenfruchtsaftgetränk	11	0 %	707,7	1405,0	Wenig Messungen
Pflaumenmus	174	0 %	410,9	1490,0	
Aprikosenkonfitüre	15	0 %	36,3	78,8	Wenig Messungen
Müsliriegel	117	9 %	43,2	213,0	
Pralinen	13	0 %	273,8	344,0	wenig Messungen, unspezifisch (große Variabilität)
Pflaume getrocknet	153	0 %	350,8	910,0	
Getränkepulver mit Kaffee	23	0 %	286,1	548,5	unspezifisch (große Variabilität)
Roggenmischbrot	20	10 %	44,5	147,0	große Variabilität in der Herstellung und Zusammensetzung
Mandel, gebrannt dragiert	28	0 %	155,5	351,0	
Glühwein	192	27 %	13,7	47,1	
kakaohaltiges Getränkepulver	14	0 %	503,8	571,6	wenig Messungen, unspezifisch (große Variabilität)
Getränk aus Trockenpflaumen	71	0 %	1022,1	1456,9	

3.2.2 Verzehrdaten

Das BfR hat Daten aus verschiedenen Erhebungsmethoden der Nationalen Verzehrsstudie NVS II des Max Rubner-Instituts (MRI) und mit unterschiedlichem Rezeptaufschlüsselungsgrad ausgewertet¹. Ein Teil der gemessenen Lebensmittel ist in den Verzehrdaten nur unzureichend abgebildet. Nicht immer können alle Verzehrsmengen aus Rezepten (zusammengesetzten Lebensmitteln) einfließen, so dass es zu Unterschätzungen kommen kann (Tab.2) Weiterhin können keine Varianzen aufgrund herstellungsbedingter Unterschiede durch Rezeptur und Verarbeitung (Erhitzungsgrad etc.) berücksichtigt werden. Lebensmittel mit geringem Verzehranteil oder selten verzehrte Lebensmittel können mit den Erhebungsmethoden unter Umständen nicht ausreichend erfasst werden, so dass Verzehrsmengen unterschätzt werden könnten. Es muss darauf hingewiesen werden, dass es aufgrund verschiedener methodischer Ansätze zur Datenaufbereitung (Aufschlüsselung und Zuordnung der Lebensmittel, wie oben beschrieben) Unterschiede zu den publizierten Verzehrsmengen in den Ergebnisberichten des MRI (MRI, 2008) geben kann.

¹ **Datengrundlagen für die Aufnahmeschätzung:** Die Verzehrdatenauswertungen beruhen auf Daten der „Dietary History“-Interviews und 24h-Recalls der Nationalen Verzehrsstudie II (NVS II). Die NVS II ist die zurzeit aktuellste 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 (MRI, 2008). Die Daten der „Dietary History“-Interviews wurden mit Hilfe des Programms „DISHES 05“ erhoben. Es wurden 15.371 Personen befragt und retrospektiv ihr üblicher Verzehr der letzten vier Wochen (ausgehend vom Befragungszeitpunkt) erfasst. Die Methode liefert gute Schätzungen für die langfristige Aufnahme von Stoffen, wenn Lebensmittel in allgemeinen Kategorien zusammengefasst werden oder Lebensmittel betrachtet werden, die einem regelmäßigen Verzehr unterliegen.

Die Verzehrdatenauswertungen, in denen Gerichte und zusammengesetzte Lebensmittel mittels Rezepturen aufgeschlüsselt wurden, wurden im Rahmen des BMU finanzierten Projektes „LExUKon“ (Lebensmittelbedingte Aufnahme von Umweltkontaminanten) am BfR durchgeführt.

Für 14.468 Personen wurden in den Studienzentren Messungen des Körpergewichtes vorgenommen, für 846 Personen konnte die Selbstangabe im Interview nach Plausibilitätsprüfung als Schätzwert für das Körpergewicht verwendet oder korrigiert werden. Für die verbleibenden 57 Personen wurden in Anlehnung an die „Hot-Deck“-Methode [Little, Rubin 2002] die Werte der gesamten Stichprobe nach Geschlecht, Altersgruppen, Schicht und Schwangerschaftstrimester stratifiziert und aufsteigend nach der errechneten Kalorienaufnahme sortiert. Der jeweils „ähnlichste Nachbar“ der entstehenden Teilstichproben wurde als Ersatzwert für die fehlenden Angaben zum Körpergewicht gewählt.

Die beiden unabhängigen 24h-Recalls der NVS II wurden in einem computergestützten Interview mittels „EPIC-SOFT“ erhoben. Es wurden 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 Expositionsabschätzungen bei akuten als auch bei chronischen Risiken geeignet.

Die Nutzung (Mittelung) von zwei Einzeltagesmessungen für die Berechnung einer lebenslangen Aufnahme ist mit Unsicherheiten (wie Überschätzung der hohen Perzentile und Unterschätzung der Mittelwerte) verbunden, die insbesondere bei Aussagen zu detaillierten Lebensmittelgruppen oder bei Schätzungen mit einem hohen Prozentsatz Nichtverzehrer zu beachten sind.

Die Gehaltsdaten für die Aufnahmeberechnung wurden zum Teil im Lebensmittel-Monitoring (LM-M) und größtenteils in den Überwachungsprogrammen der Länder (Planproben) zwischen 2005 und 2010 erhoben und vom Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL) übermittelt. Das LM-M enthält im Gegensatz zu Messungen anderer Überwachungspläne keine Verdachtsproben und gibt somit am ehesten das tatsächliche Vorkommen der untersuchten Stoffe in Lebensmitteln des deutschen Marktes wieder. Die Überwachungsprogramme der Länder sind risikoorientiert; daher sind bei den Messungen auch Verdachtsproben enthalten, die möglicherweise zu einer Verzerrung der realen Belastungssituation in den Lebensmitteln führen können.

Tabelle 2: Verzehr von Lebensmitteln, die zur HMF-Aufnahme beitragen in g/kg KG/Tag (Grundlage: NVS II, alle Befragte)

Lebensmittel	Anteil Verzehrer	Verzehr in g/kg KG/Tag		Datenquelle	Unsicherheiten
		MW	95. Perz.		
Honig	88 %	0,054	0,281	DISHES, alle LM aufgeschlüsselt ¹	keine Unterscheidung nach Sorten
Apfelsaft	42 %	2,280	12,561	DISHES, alle LM aufgeschlüsselt ¹	keine Unterscheidung, ob aus Konzentrat hergestellt ³
Orangensaft	58 %	0,790	3,984	DISHES, alle LM aufgeschlüsselt ¹	keine Unterscheidung, ob aus Konzentrat hergestellt
Multivitaminsaft	14 %	0,363	2,148	DISHES, alle LM aufgeschlüsselt ¹	keine Unterscheidung, ob aus Konzentrat hergestellt
Ananassaft	1 %	0,013	0	DISHES, alle LM aufgeschlüsselt ¹	keine Unterscheidung, ob aus Konzentrat hergestellt
Traubensaft	2 %	0,037	0	DISHES, alle LM aufgeschlüsselt ¹	keine Unterscheidung, ob aus Konzentrat hergestellt
Beerensaft	2 %	0,026	0	DISHES, alle LM aufgeschlüsselt ¹	Johannis-, Preisel-, Sanddorn-, Holunder-, Erd-, Him-, Brom-, Heidelbeere zusammengef.
Pflaumensaft	<<1 %	0,000	0	DISHES, alle LM aufgeschlüsselt ¹	Vermutlich nicht aus Trockenpflaumen
Pflaumenmus	2 %	0,002	0	DISHES, Gerichte aufgeschlüsselt ²	
Aprikosen-konfitüre	<<1 %	0,000	0	DISHES, Gerichte aufgeschlüsselt ²	
Müsliriegel	8 %	0,009	0,042	DISHES, Gerichte aufgeschlüsselt ²	
Pralinen	8 %	0,009	0,046	DISHES, Gerichte aufgeschlüsselt ²	keine gefüllte Schokolade
Pflaume getrocknet	<1 %	0,001	0	DISHES, Gerichte aufgeschlüsselt ²	
Getränkpulver mit Kaffee	<1 %	0,002	0	DISHES, Gerichte aufgeschlüsselt ²	Getränke aus Pulver nur teilweise aufgeschlüsselt, daher Unterschätzung
Roggenmischbrot	64 %	0,640	2,249	DISHES, Gerichte aufgeschlüsselt ²	Roggenmischbrote und Mischbrot n.s.
Mandel, kandiert/geröstet	<1 %	0,001	0	24h-Recalls, Gerichte aufgeschlüsselt* ²	auch süße Mandel geröstet
Glühwein	<1 %	0,016	0	24h-Recalls, Gerichte aufgeschlüsselt* ²	
kakaohaltiges Getränkpulver	2 %	0,002	0	24h-Recalls, Gerichte aufgeschlüsselt* ²	Getränke aus Pulver nur teilweise aufgeschlüsselt, daher Unterschätzung

* bezogen auf ein Standard-KG von 60 kg; Methode unterschätzt Verzehranteil

¹ Rezepte/Gerichte und nahezu alle zusammengesetzten Lebensmittel in unverarbeitete Einzelbestandteile aufgeschlüsselt und gegebenenfalls Verarbeitungsfaktoren berücksichtigt

² keine Mengen aus zusammengesetzten Lebensmitteln, wie Süß- oder Backwaren

³ höhere Gehalte in aus Konzentraten hergestellten Säften aufgrund Erhitzung (Morales 2009, Garnweidner 2006)

3.2.3 Aufnahmeschätzung und Unsicherheiten

Die HMF-Aufnahme wurde für den mittleren und hohen Verzehr (bezogen auf alle Befragte) ermittelt. Zusätzlich wurden Expositionen auf Grundlage hoher Gehalte (bei mittlerem und hohem Verzehr) geschätzt, die voraussetzen würden, dass eine Person immer die gleichen hoch belasteten Lebensmittel verzehrt (Markentreue) (Tab. 3). Dieses Szenario ist eher unwahrscheinlich, da 5-HMF in vielen verschiedenen Lebensmitteln vorkommt und der Gehalt durch die Verarbeitung stark variieren kann, so dass eine ständig hohe Belastung nicht immer zu erwarten ist.

Tabelle 3: HMF-Aufnahme über verschiedene Lebensmittel

Lebensmittel	HMF-Aufnahme in µg/kg KG/Tag			
	mittlere Gehalte		hoher Gehalt	
	Mittlerer Verzehr	Hoher Verzehr	Mittlerer Verzehr	Hoher Verzehr
Honig	0,5	2,6	1,4	7,3
Apfelsaft	16,8	92,5	85,1	468,5
Orangensaft	0,3	1,6	0,5	2,4
Multivitaminsaft	14,8	87,9	70,7	418,6
Ananassaft	0,0	0,0	0,1	0,0
Traubensaft	0,2	0,0	0,5	0,0
Beerensaft	0,2	0,0	0,3	0,0
Pflaumensaft	0,2	0,0	0,4	0,0
Pflaumenmus	0,7	0,0	2,5	0,0
Aprikosenkonfitüre	0,0	0,0	0,0	0,0
Müsliriegel	0,4	1,8	2,0	9,0
Pralinen	2,5	12,7	3,1	15,9
Pflaume getrocknet	0,3	0,0	0,8	0,0
Getränkpulver mit Kaffee	0,5	0,0	1,0	0,0
Roggenmischbrot	28,5	100,0	94,0	330,6
Mandel, kandiert/geröstet	0,2	0,0	0,5	0,0
Glühwein	0,2	0,0	0,7	0,0
kakaohaltiges Getränkpulver	0,9	0,0	1,0	0,0
Summe (mg/kg KG/Tag)	0,067	0,215*	0,265	
Summe (mg/Tag auf 60 kg)	4,036	12,870*	15,874	**

*Berechnung nach EFSA-Methode (EFSA 2008): die beiden LM- Gruppen, die im Mittel am meisten zur Gesamtaufnahme beitragen, gehen mit hohem Verzehr (95.P.) und die restlichen mit mittlerem Verzehr in die Berechnung ein

** Für hohen Verzehr von Lebensmitteln mit hohem 5-HMF-Gehalt wurde keine Summe berechnet, weil dieses Szenario unwahrscheinlich ist.

Die ermittelte tägliche 5-HMF-Aufnahme beträgt bei mittlerem Verzehr und mittleren Gehalten 0,067 mg/kg KG, was ungefähr 4 mg/Tag für eine 60 kg schwere Person entspricht. Vielverzehrter (95. Perz.) nehmen die dreifache Menge an 5-HMF auf (0,215 mg/kg KG/d bzw.

ca. 13 mg/d). Eine Person, die nur hoch belastete Lebensmittel verzehrt, nimmt im Mittel 0,265 mg/kg KG/Tag oder insgesamt ca. 16 mg/Tag auf.

Getränke aus Trockenpflaumen sind wegen der hohen Gehalte gesondert zu betrachten. Da es für diese Getränke keine Verzehrer in der NVS II gab, hat das BfR die Aufnahme an 5-HMF auf Basis einer Herstellerempfehlung (ca. 250 ml pro Fastentag; Voelkel, Californische Pflaume²) über den Verzehr von einem Glas dieses Getränkes berechnet. Ähnlich wie in der Stellungnahme des BgVV (BgVV 1997) wurden hohe Aufnahmen von 250 bis 350 mg pro Tag (4,1-5,8 mg/kg KG) als worst case für mittlere bzw. hohe Gehalte ermittelt.

Das Summieren von Verzehrsmengen aus verschiedenen Erhebungsmethoden ist nicht üblich, da unterschiedliche Unsicherheiten in den Datenquellen vorliegen. Somit könnten Anteile von Lebensmitteln, die zur Gesamtaufnahme beitragen, unter- oder überschätzt werden. Aufgrund des geringen Einflusses der wenigen Lebensmittel (auf die HMF-Aufnahme), die in der vorliegenden Schätzung mittels 24h-Recall ausgewertet wurden, ist eine große Verzerrung auszuschließen.

Die Rezepte aus den DISHES-Interviews sind (größtenteils) mit Standardrezepturen hinterlegt und berücksichtigen somit keine Variation in der Zubereitung/Herstellung und den daraus folgenden Verzehrsmengen. Die Expositionsschätzung betrachtet nur einen Teil der Lebensmittel, die zur HMF-Aufnahme beitragen können. Ein großer Anteil an Lebensmitteln, die ebenso 5-HMF in unterschiedlichen Mengen enthalten, konnte hier nicht einbezogen werden, da keine oder nicht ausreichend gemessene Daten vorlagen. Dazu gehören verschiedene alkoholische Getränke, Milch und Milchprodukte, erhitztes/geröstetes Gemüse, weitere Kakao-/Getreideprodukte, Säfte, getrocknete/konservierte Früchte, Fruchtzubereitungen/Marmeladen sowie Kaffee (Getränk) und Essig (VCF database; Morales 2009; Rufian-Henares 2008). Die wichtigsten Aufnahmequellen stellen aufgrund größerer Verzehrsmengen vermutlich Getreideprodukte (Backwaren, Cerealien), Kaffee sowie Milch-/produkte dar (Vgl. Rufian-Henares et al. 2009; Husøy et al. 2008).

In einer Publikation von Rufian-Henares und Cueva wurde für die spanische Bevölkerung eine mittlere Aufnahme von ca. 10 mg 5-HMF pro Tag ermittelt. Mit etwa 50 % und 32 % waren Kaffee und Weißbrot die wichtigsten 5-HMF-Aufnahmequellen. Die zugrunde gelegten Verzehrdaten beruhten auf Befragungen zu Lebensmittel-Einkäufen von 8000 spanischen Haushalten (Rufian-Henares and Cueva 2008). Die mittlere 5-HMF-Aufnahme in Norwegen liegt nach Husøy et al. (2008) bei ca. 6 mg/Tag und das 95. Perzentil bei ca. 28 mg/Tag. Hier wurden 63 % des 5-HMF über Kaffee, 11 % über Milchprodukte, 9 % über Säfte und 7 % über den Verzehr von Brot aufgenommen. Verzehrdatengrundlage bildete allerdings nur ein 24h-Recall von 53 Personen.

Ein Vergleich der HMF-Aufnahmen mit internationalen Schätzungen ist nur ansatzweise möglich, da in die aktuelle Berechnung nicht alle Lebensmittel eingeflossen sind. Es zeigt sich aber, dass die Aufnahmen an die Schätzungen aus Spanien und Norwegen heranreichen (Spanien 10 mg/Tag; Norwegen: 6-28 mg/Tag) und unter Berücksichtigung möglicher weiterer Aufnahmen über Lebensmittel im selben Bereich liegen könnten.

Auffällig ist, dass bei den Abschätzungen aus Spanien und Norwegen jeweils ein relativ hoher Anteil durch Kaffee-Getränke gefunden wurde, der für Deutschland wegen fehlender Gehalts-Bestimmungen hier nicht berücksichtigt werden konnte. Eine dezidierte Abschätzung dieser Exposition wurde jüngst für Spanien veröffentlicht (Arribas-Lorenzo und Morales

² www.heifastenkur.de/tth_Pflaumensaft.shtml

2010). Die Autoren schätzen die hohe Aufnahme für Personen mit mittlerem Verzehr bei hohen Gehalten mit 8,57 mg pro Tag ab. Unter der Annahme, dass sich 5-HMF-Gehalte im Kaffee und der Kaffee-Konsum in beiden Ländern nicht wesentlich unterscheiden, wird für die überschlägige Abschätzung der hohen 5-HMF-Exposition in Deutschland daher der genannte spanische Wert addiert. Somit ergibt sich für die hohe Exposition ein Wert von ca. 24 mg pro Tag (15,87 mg + 8,57 mg), entsprechend ca. 0,4 mg/kg Körpergewicht täglich.

Bei den hier gemachten Abschätzungen bleibt unklar, inwieweit Aufnahmen von 5-HMF als zugesetzter Aromastoff (siehe 3.2.3.1) bzw. als Inhaltsstoff von Raucharomen (siehe 3.2.3.2) mitberücksichtigt wurden; bei der Messung von 5-HMF-Gehalten in Lebensmitteln kann nicht zwischen verschiedenen Quellen differenziert werden. Die in Tabelle 1 gelisteten Lebensmittel enthalten jedoch mit hoher Wahrscheinlichkeit keine Raucharomen. Ob diesen Lebensmitteln 5-HMF als Aromastoff zugesetzt worden sein könnte, lässt sich nicht beurteilen. Da es um die Abschätzung des ungünstigsten Falles für eine längerfristige Exposition geht, werden die unten genannten maximal abgeschätzten Aufnahmen von 1,60 und 4,68 mg/Tag für die Verwendung von 5-HMF als Aromastoff bzw. für 5-HMF als Inhaltsstoff von Raucharomen zur Gesamtschätzung der Aufnahme addiert. Somit ergibt sich ein Gesamtwert von ca. 30 mg/Tag entsprechend ca. 0,5 mg/kg Körpergewicht täglich.

Der Verzehr von Getränken aus Trockenpflaumen wurde gesondert bewertet (siehe 3.3).

Aufnahmeschätzungen für Kinder hat das BfR nicht vorgenommen. Die zur Verfügung stehenden Verzehrdaten bergen ähnliche Unsicherheiten, wie die für die erwachsene Bevölkerung, und sind nur bedingt geeignet. Für Kleinkinder liegen dem BfR keine geeigneten Verzehrdaten vor. Derzeit sieht das BfR keine Notwendigkeit für eine Expositionsabschätzung für Kinder.

3.2.3.1 Verwendung von 5-HMF als Aromastoff

5-HMF kann gemäß Verordnung (EG) Nr. 2232/96 als Aromastoff in Lebensmitteln verwendet werden. Die Substanz ist unter der FL-Nr. 13.139 in dem EU-Aromastoff-Verzeichnis aufgeführt (Entscheidung der Kommission 1999/217/EG). 5-HMF wurde vom AFC-Panel der EFSA im April 2005 im Rahmen der Flavouring Group Evaluation 13 (FGE.13) bewertet. Das Panel kam zu dem Schluss, dass zu 5-HMF Daten fehlen, mit denen das genotoxische Potenzial *in-vivo* geklärt werden kann; die nach dem m-TAMDI-Approach 2005 abgeschätzte Aufnahme beträgt 1,6 mg/Tag³ (EFSA 2005, 2010b).

³ Auf der Basis der von der Aromenindustrie mitgeteilten Produktionszahlen hat die EFSA die 5-HMF-Aufnahme nach dem „Maximised Survey-derived Daily Intake (MSDI)-Approach“ abgeschätzt und mit 0,012 µg/Person und Tag angegeben. Zusätzlich wurde die Aufnahme auf der Basis der von der Aromenindustrie mitgeteilten Verwendungsmengen nach dem „modified Theoretical Added Maximum Daily Intake (mTAMDI)-Approach“ abgeschätzt. Der Europäische Aromenverband EFFA hat der EFSA mitgeteilt, dass 5-HMF in 15 der 18 in Annex III der Verordnung (EG) Nr. 1565/2000 genannten Lebensmittelkategorien eingesetzt wird. Die in diesen Lebensmittelkategorien vorgesehenen normalen Verwendungsmengen (Normal use levels) liegen im Bereich von 1 bis 5 mg/kg, während maximale Verwendungsmengen (maximum use levels) mit Werten von 5 bis 25 mg/kg angegeben sind. Die auf dieser Basis nach dem m-TAMDI-Approach im April 2005 abgeschätzte Aufnahme beträgt 1600 µg/Person und Tag (EFSA 2005, 2010b). Dieser Wert liegt über dem „Threshold of concern“ von 540 µg/Person und Tag für die betreffende Substanzklasse II, so dass bei einer erneuten Bewertung durch die EFSA genauere Expositionsdaten erforderlich wären.

Die FGE.13 wurde im November 2009 von dem nun für Aromastoffe zuständigen CEF-Panel im Hinblick auf die Bewertung zusätzlicher Aromastoffe aktualisiert (FGE.13Rev1) (EFSA 2010b). 5-HMF war von der Aktualisierung nur insofern betroffen als nun auch für die Lebensmittelkategorie 14.2 („Alcoholic beverages, incl. alcohol-free and low-alcoholic counterparts“) Verwendungsmengen angegeben wurden. Das CEF-Panel bewertet allerdings zurzeit 5-HMF neu, insofern wird es voraussichtlich eine weitere Aktualisierung der FGE.13 geben.

3.2.3.2 5-HMF in Raucharomen und Karamel-Farbstoffen (E 150 a-d)

5-HMF wurde auch in Holzrauch und in Raucharomen nachgewiesen (Morales 2009). Quantitative Angaben zum 5-HMF-Gehalt sind zu sechs der elf von der EFSA bewerteten Primärauchkondensate verfügbar (Scansmoke PB 1110, SmokeEz C-10; SmokeEz Enviro 23, Unismoke, Zesti Smoke Code 10, AM01) (EFSA 2009a-e, EFSA 2010a). Die Gehalte liegen im Bereich von 0,8 bis 2,6 g/kg Primärauchkondensat. Mit dem Konsum von Lebensmitteln, die das Primärauchkondensat mit dem 5-HMF-Gehalt von 2,6 mg/kg enthalten, können unter Berücksichtigung mittlerer und hoher Verzehrsmengen 42 bis 78 µg 5-HMF/kg KG und Tag aufgenommen werden (entsprechend 2,5 bis 4,7 mg/Tag). Lebensmittel, die Raucharomen enthalten, tragen somit ebenfalls zur Gesamtaufnahme an 5-HMF bei.

5-HMF ist zudem ein Inhaltsstoff von Karamel-Farbstoffen (Zuckerkulör). Diese werden in vier Klassen eingeteilt, die sich in Bezug auf die Herstellungsbedingungen, die Zusammensetzung sowie die verwendeten Mengen beim Einsatz als Zusatzstoff unterscheiden. Die EFSA hat sich kürzlich mit dieser Stoffgruppe befasst. In ihrem im März 2011 veröffentlichten Bericht (EFSA 2011) werden Daten des Industrieverbandes EUTECA (European Technical Caramel Association) dargestellt. Für Klasse I (Einfaches Zuckerkulör, E 150 a) wurden 5-HMF-Gehalte angegeben zwischen 700 und 27300 mg/kg, für Klasse II (Sulfitlaugen-Zuckerkulör, E 150 b) zwischen 3300 und 33700 mg/kg, für Klasse III (Ammoniak-Zuckerkulör, E 150 c) zwischen 10 und 3900 mg/kg, und für Klasse IV (Ammonsulfit-Zuckerkulör, E 150 d) zwischen 4900 und 21400 mg/kg. Mit diesen Daten ist keine einfache Expositionsschätzung möglich, da die 5-HMF-Gehalte in Zuckerkulör eine große Spanne aufweisen und auch die Verwendungsmengen von Zuckerkulör in Lebensmitteln variieren können. Bei Annahme von Worst-Case-Bedingungen (auf der Basis der hohen, allgemein angegebenen Verwendungsmengen für diese Zusatzstoffe und der höchsten 5-HMF-Gehalte) würden sich bei hohen Verzehrsmengen (z.B. von bestimmten gefärbten Soft-Drinks) Aufnahmemengen für 5-HMF mit relativ geringen Sicherheitsabständen ähnlich wie bei den Getränken aus Trockenpflaumen ergeben. Analytische Daten über 5-HMF-Gehalte in verzehrfertigen Lebensmitteln, die unter Verwendung dieser Zusatzstoffe hergestellt wurden, liegen derzeit nicht vor, wären jedoch wichtig für eine zuverlässige Schätzung der 5-HMF-Gesamtexposition. Ähnliches gilt für Lebensmittel, in denen karamelisierter Zucker enthalten ist; gegenwärtig liegen hier erst sehr wenige Analysendaten vor (5-HMF-Gehalte zwischen 110 und 9500 mg/kg (Bachmann et al. 1997)).

3.3 Risikocharakterisierung

Wie unter 3.1.5 ausführlich diskutiert, liegen widersprüchliche Befunde zur möglichen Kanzerogenität von 5-HMF vor. Insgesamt ist die Evidenz für ein kanzerogenes Potenzial jedoch sehr limitiert. Eine Risikobewertung bezüglich dieses Parameters kann auf der Basis der verfügbaren Daten nicht durchgeführt werden (z.B. keine Dosis-Wirkungs-Beziehung).

Hinsichtlich sonstiger toxischer Wirkungen lässt sich, wie oben dargestellt, aus tierexperimentellen Daten eine tägliche Dosis im Bereich 80-100 mg/kg KG ableiten, bei der keine Effekte mehr beobachtet wurden. Allerdings ist die Zahl der durchgeführten Studien und der verwendeten Spezies limitiert. Zudem ist der kritische Effekt nicht eindeutig charakterisiert. Es lässt sich keine Aussage über Mechanismen der Toxizität und deren Relevanz für den

Menschen machen. Zudem fehlen z.B. Studien zu möglichen reproduktionstoxischen Effekten.

Wegen dieser Unsicherheiten ist es derzeit nicht möglich, einen No-observed-adverse-Effect-Level (NOAEL) zu identifizieren, der sich zur Ableitung eines TDI eignen würde.

Andererseits gibt es aber auch keine Belege, dass es sich bei 5-HMF um eine Substanz mit besonderem toxischen Potenzial handeln würde. Wie unter 3.2.3 dargestellt, liegt die 5-HMF-Exposition des Menschen maximal im Bereich von 0,5 mg/kg KG. Somit besteht ein „Margin of Safety“ von deutlich mehr als 100; dieser Sicherheitsabstand wird beim gegenwärtigen Wissensstand für ausreichend gehalten, so dass Risiken für den Menschen unwahrscheinlich bzw. nicht erkennbar sind.

Getränke aus Trockenpflaumen müssen gesondert betrachtet werden, da für sie als worst case eine Exposition von bis zu 5,8 mg/kg KG ermittelt wurde (1 Glas pro Tag mit hohem Gehalten). Da es bei der Toxizität von 5-HMF um mögliche subchronische und chronische Effekte geht, ist nicht die Spitzenexposition an einzelnen Tagen relevant, sondern die über einen längeren Zeitraum bestehende Belastung. Bei mittlerem Gehalt (relevant für längerfristige Expositionen) ergibt sich zwar immer noch eine Belastung von 4,1 mg/kg KG täglich (8 mal höher als für die anderen Lebensmittel maximal abgeschätzt); es ist jedoch fraglich, ob es Verbraucher gibt, die täglich über einen längeren Zeitraum jeden Tag ein Glas dieses Getränkes aus Trockenpflaumen trinken. Immerhin liegt noch ein Sicherheitsabstand von ungefähr 20 vor. Hinweise auf konkrete Gesundheitsrisiken beim Menschen gibt es bislang nicht.

4 Handlungsoptionen

Die Daten zur Exposition sind noch unvollständig, insbesondere fehlen Messungen zu Gehalten in Kaffee (Getränk) und Milchprodukten. Verdachtsmomente, welche weiteren Lebensmittel besonders hoch belastet sein könnten, liegen, abgesehen von Karamel-Farbstoffhaltigen Lebensmitteln, nicht vor. Deshalb sieht das BfR Gehaltsbestimmungen in Lebensmitteln, denen Karamel-Farbstoffe und/oder karamellierter Zucker zugesetzt wurden, zum Zwecke der Expositionsschätzung derzeit als sinnvoll an.

Aus Sicht des BfR ist die grundsätzliche Abklärung der diskutierten widersprüchlichen Befunde zur kanzerogenen Wirkung von 5-HMF jedoch von vorrangiger Bedeutung. Hierzu wären z.B. Untersuchungen über gewebsspezifische DNA-Addukte zur Klärung des toxikologischen Sachverhalts angebracht. Humane Sulfotransferasen sollen eine höhere Aktivität gegenüber 5-HMF als Sulfotransferasen von Mäusen und Ratten haben (Glatt and Sommer 2006). Deshalb könnten auch *in-vivo*-Studien zur Gentoxizität sinnvoll sein, in denen die Relevanz der Sulfatierung von 5-HMF untersucht wird. Das BfR empfiehlt z.B. Studien zur DNA-Addukt Bildung und Induktion von Mutationen mit transgenen Mäusen, die, im Vergleich zu Wildtyp-Mäusen, humane SULT1A1 exprimieren.

5 Referenzen

Arribas-Lorenzo G, Morales FJ (2010) Estimation of dietary intake of 5-hydroxymethylfurfural and related substances from coffee to Spanish population. *Food Chem Toxicol.* 48:644-649.

Aeschbacher, H.U., Chappus, C., Manganel, M., Aeschbach, R. (1981). Investigation of mail-lard products in bacterial mutagenicity test systems. *Prog. Food Nutr. Sci.* 5, 279-294.

Archer, M.C., Bruce, W.R., Chan, C.C., Corpet, D.E., Medline, A., Roncucci, L., Stamp, D., Zhang, X.M. (1992). Aberrant crypt foci and microadenoma as markers for colon cancer. *Environmental Health Perspectives*, 98, 195-197.

Bachmann, S., Meier, M., Kanzig, A. (1997) 5-Hydroxymethyl-2-furfural (HMF) in Lebensmitteln. *Lebensmittelchemie* 51, 49–50.

Bakhiya, N., Monien, B., Frank, H., Seidel, A., Glatt, H.R. (2009). Renal organic anion transporters OAT1 and OAT3 mediate the cellular accumulation of 5-sulfooxymethylfurfural, a reactive, nephrotoxic metabolite of the Maillard product 5-hydroxymethylfurfural. *Biochem. Pharmacol.* 78, 414-419.

Bauer-Marinovic, M., Taugner, F., Florian, S., Glatt, H.R. (2010). Toxicity of 5-hydroxymethylfurfural and its metabolite 5-sulfooxymethylfurfural in kidney and liver of wild-type mice and transgenic mice expressing human sulfotransferases 1A1 and 1A2. *Mol. Nutr. Food Res* (under revision).

BgVV, 1997, Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz, Stellungnahme „Vorkommen von 5-Hydroxymethylfurfural in Lebensmitteln“ vom 25.07.1997

Corpet, D.E., Stamp, D., Medline, A., Minkin, S., Archer, M.C., Bruce, W.R. (1990). Promotion of colonic microadenoma growth in mice and rats fed cooked sugar or cooked casein and fat. *Cancer Res* 50:6955-6958.

Dahlberg, J. (2004) 'Genotoxiciteten av HMF: s metabolit SMF studerad med det floëdescytometerbaserade mikrokaërntestet *in vivo*', Examination work supervised by Abramsson-Zetterberg L, University of Uppsala, Uppsala, 34 pp. (Zitiert nach Glatt and Sommer 2006)

Durling, L.J.K., Busk, L., Hellman, B.E. (2009). Evaluation of the DNA damaging effect of the heat-induced food toxicant 5-hydroxymethylfurfural (HMF) in various cell lines with different activities of sulfotransferases. *Food and Chemical Toxicology*, 47, 880-884.

EFSA (2005) Opinion of the Scientific Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Materials in contact with Food (AFC) on a request from the Commission related to Flavouring Group Evaluation 13: Furfuryl and furan derivatives with and without additional side-chain substituents and heteroatoms from chemical group 14 (Commission Regulation (EC) No 1565/2000 of 18 July 2000). Adopted on 27 April 2005. *The EFSA Journal* (2005) 215, 1-73

<http://www.efsa.europa.eu/en/scdocs/doc/215.pdf>

EFSA (2008) Guidance Document for the use of the Concise European Food Consumption Database in Exposure Assessment, page 6 to 7.

http://www.efsa.europa.eu/en/datexfooddb/document/Coincise_database_guidance_document_and_annexes.pdf

EFSA (2009a) Scientific Opinion of the Panel on Food Contact Materials, Enzymes, Flavourings and Processing Aids (CEF) on the safety of smoke flavour Primary Product – Scansmoke PB 1110. *The EFSA Journal* 1056, 1-23.

<http://www.efsa.europa.eu/en/scdocs/doc/1056.pdf>

EFSA (2009b) Scientific Opinion of the Panel on Food Contact Materials, Enzymes, Flavourings and Processing Aids (CEF) on the safety of smoke flavour Primary Product – SmokEz C-10. *The EFSA Journal* 1225, 1-28.

<http://www.efsa.europa.eu/en/scdocs/doc/1091.pdf>

EFSA (2009c) Scientific Opinion of the Panel on Food Contact Materials, Enzymes, Flavourings and Processing Aids (CEF) on the safety of smoke flavour Primary Product – SmokEz Enviro 23. *The EFSA Journal* 1226, 1-24.

<http://www.efsa.europa.eu/en/scdocs/doc/1092.pdf>

EFSA (2009d) Scientific Opinion of the Panel on Food Contact Materials, Enzymes, Flavourings and Processing Aids (CEF) on the safety of smoke flavour Primary Product – Unismoke. *The EFSA Journal* 983, 1-20.

<http://www.efsa.europa.eu/en/scdocs/doc/983.pdf>

EFSA (2009e) Scientific Opinion of the Panel on Food Contact Materials, Enzymes, Flavourings and Processing Aids (CEF) on the safety of smoke flavour Primary Product – Zesti Smoke Code 10. *The EFSA Journal* 982, 1-24.

<http://www.efsa.europa.eu/en/scdocs/doc/982.pdf>

EFSA (2010a) EFSA Panel on Food Contact Materials, Enzymes, Flavourings and Processing Aids (CEF); Scientific Opinion on Safety of smoke flavour Primary Product – AM 01. *The EFSA Journal* 8(1):1396. [22 pp.].

<http://www.efsa.europa.eu/en/scdocs/doc/1396.pdf>

EFSA (2010b) Panel on Food Contact Materials, Enzymes, Flavourings and Processing Aids (CEF); Flavouring Group Evaluation 13, Revision 1 (FGE.13Rev1): Furfuryl and furan derivatives with and without additional side-chain substituents and heteroatoms from chemical group 14. *EFSA Journal* 8(4):1403. [112 pp.].

<http://www.efsa.europa.eu/en/scdocs/doc/1403.pdf>

EFSA (2011) Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food (ANS); Scientific Opinion on the re-evaluation of caramel colours (E 150a,b,c,d) as food additives. *EFSA Journal* 9, 2004.

www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/2004.htm

Femia, A.P., Tarquini, E., Salvador, M., Ferri, S., Giannini, A., Dolara, P., Caderni, G. (2008). K-ras mutations and mucin profile in preneoplastic lesions and colon tumors induced in rats by 1,2-dimethylhydrazine. *Int. J. Cancer*, 122, 117-123.

Florian, S., Bauer-Marinovic, M., Taugner, F., Dobbernack, G., Monien, H.B., Meini, W., Glatt, H.R. (2010): Study of 5-hydroxymethylfurfural and its metabolite 5-sulfoxymethylfurfural on induction of colonic aberrant crypt foci in wild-type mice and transgenic mice expressing human sulfotransferases 1A1 and 1A2. *Mol. Nutr. Food Res.*, (under revision).

Florin, I., Rutberg, L., Curvall, M., Enzell, C.R. (1980). Screening of tobacco smoke constituents for mutagenicity using the Ames' test. *Toxicology*. 18, 219-232.

Garnweidner, L. (2006): "Vergleich gesundheitsrelevanter Inhaltsstoffe von biologisch und konventionell hergestellten Apfelsäften." Diplomarbeit, Universität Wien.

Germond, J.E., Philippoussian, G., Richli, U., Bracco, I., Arnaud, M.J. (1987). Rapid and complete urinary elimination of (14C)-5-Hydroxymethyl-2-furaldehyde administered orally or intravenously to rats. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 22, 79-89.

Glatt, H.R., Sommer, Y. (2006). Health risks by 5-hydroxymethylfurfural (HMF) and related compounds. In: *Acrylamide and Other Health Hazardous Compounds in Heat-treated Foods* (K. Skog, J. Alexander, eds.), Woodhead Publishing, Cambridge, 328-357.

Godfrey, V.B., Chen, L.J., Griffin, R.J., Lebetkin, E.H., Burka, L.T. (1999). Distribution and metabolism of (5-hydroxymethyl)furfural in male F344 rats and B6C3F1 mice after oral administration. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 57, 199-210.

Husøy, T., Haugen, M., Murkovic, M., Jöbstl, D., Stølen, L.H., Bjellaas, T., Rønningborg, C., Glatt, H.R., Alexander, J. (2008). Dietary exposure to 5-hydroxymethylfurfural from Norwegian food and correlations with urine metabolites of short-term exposure. *Food and Chemical Toxicology* 46, 3697-3702.

Janzowski, C., Glaab, V., Samimi, E., Schlatter, J., Eisenbrand, G. (2000). 5-Hydroxymethylfurfural: assessment of mutagenicity, DNA-damaging potential and reactivity towards cellular glutathione. *Food Chem. Toxicol.* 38(9), 801-809.

Jellum, E., Borrensen, H.C., Eldjarn, L. (1973). The presence of furan derivatives in patients receiving fructose containing solutions intravenously. *Clinica Chimica Acta*, 47, 191-201.

Kim, S.B., Hayase, F., Kato, H. (1987b). Desmutagenic effect of alpha-dicarbonyl and alpha-hydroxycarbonyl compounds against mutagenic heterocyclic amines. *Mutat. Res.* 177, 9-15.
Lang, K., Kieckebusch, K.H., Bässler, W., Griem, W., Czok, G. (1970) Untersuchungen über die Verträglichkeit von 5-Hydroxymethylfurfural (HMF). *Zeitschrift für Ernährungswissenschaft*, 10, 97-101.

Lee, Y-C., Shlyankevich, M., Jeong, H-K., Douglas, J.S., Surh, Y.J. (1995). Bioactivation of 5-hydroxymethyl-2-furaldehyde to an electrophilic and mutagenic allylic sulphuric acid ester. *Biophysical Research Communications*, 209, 996-1002.

Majeska, J.B., McGregor, D.B. (1992). Effects of plate preparation on results in microbial mutation assays. *Environ. Molec. Mutagen.* 19(3), 244-252.

Max Rubner-Institut (MRI) 2008, Nationale Verzehrsstudie II (NVS II), Ergebnisbericht 1, 2 <http://www.was-esse-ich.de/>

Monien, B.H., Frank, H., Seidel, A., Glatt, H.R. (2009). Conversion of the common food constituent, 5-hydroxymethylfurfural, into a mutagenic and carcinogenic sulfuric acid ester in the mouse *in vivo*. *Chem. Res. Toxicol.* 22, 1123-1128.

Morales, F. J. Hydroxymethylfurfural (HMF) and related compounds. (2009) in Stadler, R. H., Lineback, D. R. "Process-Induced Food Toxicants: Occurrence, Formation, Mitigation and Health Risks"; 134-175.

Murkovic, M., Pichler, N. (2006). Analysis of 5-hydroxymethylfurfural in coffee, dried fruits and urine. *Molecular Nutrition Food Research*, 50, 842-846.

Nishi, Y., Miyakawa, Y., Kato, K. (1989). Chromosome aberrations induced by pyrolysates of carbohydrates in Chinese hamster V79 cells. *Mutat. Res.* 227, 117-123.

NTP (2010) Technical report on the toxicology and carcinogenesis studies of 5-(hydroxymethyl)-2-furfural (CAS no. 67-47-0) in F344/N rats and B6C3F1 mice (gavage studies). NTP TR 554. NIH Publication No. 10-5895, National Institutes of Health, U.S. Department of Health and Human Services. http://ntp.niehs.nih.gov/ntp/htdocs/LT_rpts/TR554.pdf

Omura, H., Jahan, N., Shinohara, K., Murakami, H. (1983). Formation of mutagens by the maillard reaction. In: Waller, G.R., Feather, M.S. (Eds.). *The Maillard Reaction in Foods and Nutrition*. ACS Symposium Series, 215. American Chemical Society, Washington D.C., pp. 537-563.

Pettersen, J.E., Jellum, E. (1972). The identification and metabolic origin of 2-furoylglycine and 2,5-furandicarboxylic acid in human urine. *Clinica Chimica Acta*, 41, 199-207.

Pryor, R.L., Wu, X., Gu, L. (2006). Identification of urinary excretion of metabolites of 5-(hydroxymethyl)-2-furfural in human subjects following consumption of dried plums or dried plum juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54.

Rufian-Henares J. A., de la Cueva S. P. (2008) Assessment of hydroxymethylfurfural intake in the Spanish diet. *Food Additives and Contaminants Vol. 25, No. 11*, 1306-1312

Severin, I., Dumont, C., Jondeau-Cabaton, A., Graillot, V. (2010). Genotoxic activities of the food contaminant 5-hydroxymethylfurfural using different in vitro bioassays. *Toxicology Letters*, 192, 189-194.

Shinohara, K., Kim, E., Omura, H. (1986). Furans as the mutagens formed by amino-carbonyl reactions. In: Fujimaki, M., Namiki, M., Kato, H., (Eds.). *Amino-Carbonyl Reactions in Food and Biological Systems*. Elsevier, New York.

Surh, Y.J., Liem, A., Miller, J.A., Tannenbaum, S.R. (1994). 5-Sulfooxymethylfurfural as a possible ultimate mutagenic and carcinogenic metabolite of the Maillard reaction product, 5-hydroxymethylfurfural. *Carcinogenesis*, 15, 2375-2377.

Surh, Y.J., Tannenbaum, S.R., (1994). Activation of the Maillard reaction product 5-hydroxymethylfurfural to strong mutagens via allylic sulfonation and chlorination. *Chemical Research in Toxicology*, 7, 313-318.

Svendson, C., Husøy, T., Glatt, H., Paulsen, J.E., Alexander, J. (2009). 5-Hydroxymethylfurfural and 5-sulfooxymethylfurfural increase adenoma and flat ACF number in the intestine of Min/+ mice. *Anticancer Res*, 29, 1921-1926.

Ulbricht R. J., Northup S. J., Thomas J. A. (1984) A review of 5-hydroxymethylfurfural (HMF) in parenteral solutions. *Fundamental Applied Toxicology* 4, 843-853.

VCF Volatile Compounds in Food : database / Nijssen, L.M.; Ingen-Visscher, C.A. van; Donders, J.J.H. [eds]. – Version 12.1 – Zeist (The Netherlands) : TNO Quality of Life, 1963-2009.

World Cancer Research Fund, Food, Nutrition, Physical Activity, and the Prevention of Cancer: a Global Perspective (2007). Washington: World Cancer Research Fund and American Institute for Cancer Research.

Zaitsev, A.N., Simonian, T.A., Pozdniakov, A.L. (1975). Hygienic standards for hydroxymethylfurfural in food products. *Vopr Pitan.*, Jan-Feb, 1, 52-5.

Zhang, X.M, Chan, C.C., Stamp, D., Minkin, S., Archer, M.C., Bruce, W.R. (1993). Initiation and promotion of colonic aberrant crypt foci in rats by 5-hydroxymethyl-2-furaldehyde in thermolyzed sucrose. *Carcinogenesis* 14, 773-775.