

Erste Einschätzung zur Bewertung der in raffinierten pflanzlichen Fetten nachgewiesenen Gehalte von Glycidol-Fettsäureestern

Stellungnahme Nr. 007/2009 des BfR vom 10. März 2009

In raffinierten Pflanzenfetten auf Palmölbasis hat das Chemische und Veterinäruntersuchungsamt (CVUA) Stuttgart Glycidol-Fettsäureester nachgewiesen. Mit den derzeit verfügbaren Analysemethoden lassen sich die genauen Mengen jedoch nicht bestimmen, sondern nur abschätzen. Es ist außerdem nicht bekannt, in welchen Mengen beim Menschen während der Verdauung Glycidol aus den Glycidol-Fettsäureestern freigesetzt wird. Nach Erkenntnissen aus Tierversuchen wird Glycidol als wahrscheinlich krebserzeugend beim Menschen eingestuft.

Aufgrund dieses bedeutenden Gefährdungspotenzials und weil raffinierte Speisefette in Produkten wie Margarine und auch in Säuglingsmilchnahrung verwendet werden, nimmt das Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) die Befunde des CVUA Stuttgart ernst und legt eine erste Einschätzung zur Bewertung vor, ob von dem nachgewiesenen estergebundenen Glycidol ein gesundheitliches Risiko ausgehen kann. Diese Einschätzung geht von dem „worst case“ aus, dass Glycidol während der Verdauung aus den Fettsäureestern vollständig freigesetzt und im Organismus verfügbar wird. Da sich die genauen Mengen an Glycidol-Fettsäureestern in Pflanzenfetten bisher nicht sicher bestimmen lassen, geht das BfR von der hypothetischen Annahme aus, dass ein Kilogramm Speisefett ein Milligramm Glycidol enthält.

Das BfR kommt auf dieser Berechnungsgrundlage zu dem Ergebnis, dass Säuglinge, die ausschließlich mit industriell gefertigter Säuglingsmilchnahrung ernährt werden, gesundheitlich bedenkliche Mengen an Glycidol aufnehmen würden. Hersteller von Säuglingsmilchnahrung müssen deswegen vorsorglich alle Anstrengungen unternehmen, um die Gehalte an Glycidol-Fettsäureestern in diesen Produkten so weit wie möglich zu reduzieren. Denn für nicht gestillte Säuglinge gibt es derzeit keine Alternative zu Säuglingsmilchnahrung mit raffinierten Fetten. Weil die Produkte für den Säugling lebenswichtige Nährstoffe enthalten, rät das BfR Eltern nicht gestillter Kinder, sie dennoch weiterhin zu verwenden. Um belastbare Expositionsdaten für eine zuverlässige Risikobewertung zu erhalten, hält das BfR die Entwicklung und Validierung einer geeigneten Nachweismethode für Glycidol-Fettsäureester für dringend erforderlich. Ebenso sind Untersuchungen zur Umwandlung von Glycidol-Fettsäureester in Glycidol im menschlichen Körper notwendig.

Der Nachweis von Glycidol-Fettsäureestern in raffinierten Pflanzenfetten hat derzeit keinen Einfluss auf die grundlegenden Aussagen zur Risikobewertung von 3-MCPD-Fettsäureestern, die ebenfalls in diesen Fetten vorkommen.

1. Gegenstand der Bewertung

In den letzten Jahren wurden in raffinierten Speisefetten und daraus hergestellten Lebensmitteln 3-Monochlorpropandiol (3-MCPD)-Fettsäureester nachgewiesen und vom Bundesinstitut für Risikobewertung gesundheitlich bewertet (BfR 2007).

Mit Erlass vom 26.01.2009 wurden dem BfR diesbezüglich nun neue Erkenntnisse des Chemischen- und Veterinäruntersuchungsamt (CVUA) Stuttgart übermittelt. Dort wurden neben den Estern von 3-MCPD auch Glycidol-Fettsäureester in raffiniertem Palmöl in signifi-

kanter Menge (einstelliger ppm-Bereich) direkt nachgewiesen¹. Glycidol wird international als wahrscheinliches Humankarzinogen eingestuft. Auch wenn die wenigen bisher vorliegenden Daten mittels einer qualitativen, nicht validierten Methode ermittelt wurden, nimmt das BfR aufgrund des bedeutenden Gefährdungspotenzials von Glycidol diese Befunde zum Anlass, eine erste Einschätzung zu dieser Problematik vorzunehmen.

Darüber hinaus wird das BfR um Stellungnahme gebeten, ob die bisherige Risikobewertung zu 3-MCPD-Fettsäureestern weiterhin Bestand hat oder ob sie aufgrund der neuen Erkenntnisse revidiert werden muss.

2. Ergebnis

Die vom CVUA Stuttgart mitgeteilten Analyseergebnisse bestätigen das bereits vermutete Vorkommen von Glycidol-Fettsäureestern in raffinierten Speisefetten. Eine fundierte Expositionsabschätzung ist derzeit aber nicht möglich. Dazu wäre eine belastbare Quantifizierung der Glycidol-Fettsäureester in allen relevanten raffinierten Speisefetten erforderlich, inklusive den für Säuglingsmilchnahrung verwendeten Fetten. Hierfür ist die Entwicklung und Validierung einer entsprechenden Analysenmethode vordringlich.

Die grundlegenden Aussagen zur Risikobewertung von 3-MCPD-Fettsäureestern des BfR (2007) haben weiterhin Bestand. Nach den jetzt vorliegenden Ergebnissen wäre es jedoch möglich, dass die Expositionsschätzung nach Etablierung und Validierung von analytischen Methoden für Glycidol- und 3-MCPD-Fettsäureestern nach unten korrigiert werden müsste. Überschlüssig kann nach den bisherigen Erkenntnissen aber bereits gesagt werden, dass eine größere Korrektur nicht erforderlich sein wird und dass die Überschreitung des Tolerable Daily Intake (TDI)-Wertes durch den Verzehr von Säuglingsmilchnahrung bei nicht gestillten Kindern bestehen bleiben wird.

Unabhängig von der Risikobewertung für 3-MCPD-Fettsäureester ist eine Risikobewertung für Glycidol-Fettsäureester in raffinierten Speisefetten erforderlich. Bei Glycidol handelt es

¹ Zwischenzeitlich wurden auf der Sitzung der DFG-Senatskommission zur gesundheitlichen Bewertung von Lebensmitteln (SKLM) am 19./20.02.2009 vom Ministerium für Ernährung und ländlichen Raum, Baden-Württemberg neue Daten des CVUA Stuttgart vorgestellt und kommentiert:

„Eine quantitative Bestimmung von estergebundenem Glycidol ist zur Zeit nur eingeschränkt möglich, da ein validiertes Bestimmungsverfahren fehlt. Mit einem Differenzverfahren ist jedoch eine Abschätzung des Gehaltes an Glycidylestern möglich. Erste Untersuchungsergebnisse (siehe Tabelle) zeigen, dass sich die Gehalte an Fettsäure gebundenem Glycidol im einstelligen ppm-Bereich bewegen.“

Matrix (Anzahl)	3-MCPD-Ester(*)	Glycidylester (*)
Palmöl (5)	2,6 mg/kg	2,9 mg/kg
Olivenöl (5)	1,2 mg/kg	0,3 mg/kg
Sonnenblumenöl (4)	0,8 mg/kg	0,4 mg/kg
Rapsöl (3)	0,4 mg/kg	< 0,1 mg/kg
Sojaöl (3)	0,9 mg/kg	0,4 mg/kg
Distelöl (3)	1,4 mg/kg	0,8 mg/kg
Maiskeimöl (3)	1,7 mg/kg	0,6 mg/kg

(*) berechnet als 3-MCPD bzw. als Glycidol“

Bei den genannten Daten handelt es sich um erste Messergebnisse mit einer neu entwickelten Methode aus einem Labor. Es liegen weder validierte und von anderen Einrichtungen bestätigte Analyse-Ergebnisse noch Daten zu zusammengesetzten Speisefetten wie Margarine und zu Säuglingsmilchnahrung vor. Deshalb können derzeit mit den genannten Daten keine konkreten Expositionsschätzungen durchgeführt werden. Für eine vorläufige überschlägige Abschätzung geht das BfR im Kapitel 3.4.5 von einem hypothetischen Glycidol-Gehalt entsprechend 1 mg/kg Fett aus.

sich um ein genotoxisches Kanzerogen, das von der ‚International Agency for the Research on Cancer‘ (IARC) als ‚probably carcinogenic to humans‘ (Gruppe 2A) eingestuft wurde. Toxikologische Untersuchungen für Glycidol-Fettsäureester liegen nicht vor. Deshalb ist auch nicht bekannt, ob und in welchem Ausmaß Glycidol-Fettsäureester nach oraler Aufnahme im Organismus zu Glycidol hydrolysiert werden; als Worst-Case-Annahme muss derzeit von einer vollständigen Hydrolyse ausgegangen werden. Unter der hypothetischen Annahme eines Glycidol-Gehaltes in der Säuglingsmilchnahrung von 1 mg/kg Fett würde eine überschlägige Berechnung des ‚Margin of Exposure‘ (MoE) Werte für nicht gestillte Säuglinge ergeben, die deutlich unter 10.000 liegen und somit als kritisch bzw. gesundheitlich bedenklich zu beurteilen wären. Dabei wird davon ausgegangen, dass der Anteil des oral aufgenommenen Glycidols bzw. des Glycidol-Fettsäureesters, der von der Salzsäure im Magen zu 3-MCPD bzw. 3-MCPD-Fettsäureester umgewandelt wird, bei Mensch und Nagetier vergleichbar ist.

Sollten die vom CVUA Stuttgart genannten Konzentrationen im einstelligen ppm-Bereich durch Bestimmungen mit validierten Methoden und von anderen Einrichtungen bestätigt werden, müsste erreicht werden, dass entsprechend dem ALARA-Prinzip (**As Low As Reasonably Achievable**) alle Anstrengungen unternommen werden, eine weitest mögliche Minimierung von Glycidol-Fettsäureester-Gehalten in raffinierten pflanzlichen Speisefetten zu erreichen. Dies gilt insbesondere für Fette, die zur Herstellung von Säuglingsmilchnahrung verwendet werden.

3. Begründung

3.1. Analyseergebnisse des CVUA Stuttgart

Das CVUA Stuttgart hat in vier auf Palmöl basierenden Pflanzenfetten Glycidol-Fettsäureester nachgewiesen, deren Vorkommen bisher diskutiert worden war. Nach Kenntnis des BfR wurden diese Palmölfette ausgewählt, weil in raffinierten Speisefetten anlässlich des Ringversuchs des BfR im Auftrag der AG Analytik von 3-MCPD-Fettsäureestern besonders große, methodenabhängige Differenzen bezüglich der ermittelten 3-MCPD-Gehalte beobachtet wurden (BfR 2008a, 2008b). Als mögliche Ursache für diese Differenzen wurde das Vorkommen von Glycidol-Fettsäureestern in den genannten raffinierten Fetten diskutiert. Ob Glycidol in ungebundener Form im Speisefett vorkommt, ist bisher nicht bekannt. Wie erwartet, wurden vom CVUA Stuttgart in unbehandelten Ölen (natives Olivenöl, rohes Palmöl) keine Glycidol-Fettsäureester nachgewiesen.

Außer den in den Schreiben des CVUA Stuttgart dargelegten Angaben liegen dem BfR keine weiteren Daten zum Nachweis von Glycidol-Fettsäureestern in raffinierten Speisefetten vor; Unterlagen, die die eindeutige Identifizierung und Quantifizierung der Glycidol-Fettsäureester nachvollziehbar belegen, wurden dem BfR bislang nicht vorgelegt.

Für eine sichere Expositionsschätzung ist eine belastbare quantitative Bestimmung der Glycidol-Fettsäureester in relevanten Speisefetten erforderlich. Hierzu besteht dringender analytischer Entwicklungsbedarf. Aufgrund der besonderen Expositionssituation von nicht gestillten Säuglingen (siehe unten und Bericht zu 3-MCPD-Fettsäureestern, BfR 2007) sind insbesondere analytische Untersuchungen von Säuglingsnahrung wichtig.

3.2 Bisherige Risikobewertung von 3-MCPD-Fettsäureestern

Die vom BfR (2007) durchgeführte Risikobewertung von 3-MCPD-Fettsäureestern hat bezüglich Gefährdungspotenzial und TDI-Wert weiterhin Bestand. Hinsichtlich der Expositionsschätzung ist jedoch darauf hinzuweisen, dass im Ringversuch (BfR 2008a, 2008b) zur Bestimmung von 3-MCPD-Fettsäureestern in Abhängigkeit von der verwendeten Analysemethode in einigen Fetten zu hohe 3-MCPD-Gehalte gemessen wurden. Besonders bei der Analyse von raffiniertem Hartfett auf Palmölbasis wurden systematisch Überbefunde mit der vom CVUA Stuttgart entwickelten Methode festgestellt.

Zur analytischen Bestimmung von 3-MCPD-Fettsäureestern wird derzeit die Methodik im BfR optimiert. Belastbare Ergebnisse liegen noch nicht vor, so dass eine Überarbeitung der Expositionsschätzung von 3-MCPD-Fettsäureestern in raffinierten Speisefetten nicht erfolgen kann. Überschlägig kann nach den bisherigen Erkenntnissen festgestellt werden, dass eine größere Korrektur der Expositionsschätzung nach unten nicht erforderlich sein wird und dass die Überschreitung des TDI-Wertes durch den Verzehr von Säuglingsmilchnahrung bei nicht gestillten Kindern bestehen bleiben wird. Die Forderung nach Maßnahmen zur technologischen Reduktion der Gehalte von 3-MCPD-Fettsäureestern in raffinierten Speisefetten bleibt daher bestehen.

In Bezug auf das mögliche Vorhandensein relevanter Mengen von Glycidol-Fettsäureestern in raffinierten Speisefetten kann nicht ausgeschlossen werden, dass diese Verbindungen nach oraler Aufnahme im Magen durch Salzsäure zu 3-MCPD-Fettsäureestern umgesetzt werden (siehe unten); eine solche Bildung von 3-MCPD müsste bei der Exposition zusätzlich berücksichtigt werden. Da derzeit über diese im Magen-Darm-Trakt erfolgende Reaktion keine gesicherten Erkenntnisse vorliegen, kann dieser Aspekt bei der Risikobewertung vorläufig keine Berücksichtigung finden.

Bezüglich der neu entdeckten Problematik des Vorkommens von Glycidol-Fettsäureestern in raffinierten Speisefetten ist eine separate Risikobewertung unabhängig von der für 3-MCPD-Fettsäureester erforderlich, da Glycidol ein eigenes Gefährdungspotenzial besitzt.

3.3 Gefährdungspotenzial von estergebundenem Glycidol

Toxikologische Daten zu Glycidol-Fettsäureestern liegen nicht vor. In der Risikobewertung von 3-MCPD-Fettsäureestern (BfR 2007) wurde bereits ausführlich die Frage diskutiert, in welchem Umfang während der Darmpassage eine Ester-Spaltung eintreten könnte. Zur Spaltung von Mono- und Diestern liegen für 3-MCPD-Fettsäureester *in-vitro* Daten vor, deren Übertragbarkeit auf die *in-vivo* Situation diskutiert wurde. Für Glycidol-Fettsäureester wurden solche Untersuchungen bisher nicht durchgeführt. Solange diesbezüglich keine Ergebnisse vorliegen, wird für die im Folgenden durchgeführten Berechnungen als Worst-case-Annahme davon ausgegangen, dass es bei der Darmpassage zu einer vollständigen Ester-Spaltung kommt und dass das hieraus freigesetzte Glycidol genauso bioverfügbar ist wie oral aufgenommenes Glycidol.

3.4 Gefährdungspotenzial von ungebundenem Glycidol

Glycidol wurde zuletzt im Jahr 2000 von der IARC (IARC 2000) und in Deutschland von der MAK-Kommission toxikologisch bewertet (MAK 2000). Von der IARC wird Glycidol als ‚probably carcinogenic to humans‘ (Gruppe 2A) eingestuft. Von der MAK-Kommission erfolgte eine Einstufung in Kategorie 2 (Stoffe, die als krebserzeugend beim Menschen anzusehen sind, weil durch hinreichende Ergebnisse aus Langzeit-Tierversuchen oder Hinweise aus

Tierversuchen und epidemiologischen Untersuchungen davon auszugehen ist, dass sie einen nennenswerten Beitrag zum Krebsrisiko leisten). Im Rahmen des europäischen Chemikalienrechts ist Glycidol in Annex I der Richtlinie 67/548/EEC aufgenommen; in diesem Anhang befinden sich Substanzen mit CMR-Eigenschaften (**C**ancerogen, **M**utagen, **R**eproduktionstoxisch), Glycidol ist wie folgt eingestuft: Carc. Cat. 2; Muta. Cat. 3; Repr. Cat. 2 (European Chemicals Bureau, <http://ecb.jrc.ec.europa.eu/classification-labelling>). Aufgrund der eindeutigen Bewertungslage werden im Folgenden nur die wesentlichen Erkenntnisse zum Gefährdungspotenzial zusammengefasst. Lediglich zur Bestimmung eines Ausgangswertes für eine überschlägige Berechnung eines MoE wird detaillierter auf die Datenlage eingegangen.

3.4.1 Agens

In der Industrie wird Glycidol zur Synthese verschiedener Chemikalien verwendet. Aufgrund seiner Epoxid-Struktur hat Glycidol alkylierende Eigenschaften, für die keine metabolische Aktivierung erforderlich ist.

3.4.2 Erkenntnisse zur Kinetik von Glycidol

Die Kinetik wurde nach Schlundsonden-Verabreichung von ¹⁴C-markiertem Glycidol (Dosierungen: 37.5 und 75 mg/kg Körpergewicht) an Ratten untersucht (Nomeir et al., 1995). Innerhalb von 72 Stunden wurden 40 - 42 % der verabreichten Radioaktivität mit dem Urin und 10 - 12 % mit den Faeces ausgeschieden. Sowohl 24 als auch 72 Stunden nach Verabreichung wurde in allen untersuchten Organen Radioaktivität nachgewiesen, was auf eine sehr gute Verteilung der aus dem markierten Glycidol stammenden Radioaktivität hinweist. Es ist davon auszugehen, dass die in den verschiedenen Organen nachgewiesene Radioaktivität nicht auf unverändertes Glycidol zurückzuführen ist, sondern auf Substanzen, die aus der Reaktion der Epoxidgruppe des Glycidols mit Nukleophilen resultieren. Die höchsten Konzentrationen an Radioaktivität wurden in Blutzellen, Schilddrüse, Leber, Niere und Milz gemessen; in Fettgewebe, Skelettmuskel und Plasma war diese am geringsten.

Glycidol wird extensiv metabolisiert: nach oraler und intravenöser Verabreichung von ¹⁴C-markiertem Glycidol an Ratten wurden 15 verschiedene Metabolite im Urin nachgewiesen, die größtenteils nicht identifiziert worden sind (Nomeir et al., 1995). Nach oraler Aufnahme ist anzunehmen, dass Glycidol unter Einwirkung von Salzsäure im Magen teilweise in 3-MCPD umgewandelt wird (MAK 2000), wobei Speziesunterschiede aufgrund von Differenzen im pH-Wert denkbar sind²: Der zumindest durchschnittlich niedrigere pH-Wert im Magens des Menschen (1,6 bis 4,5) im Vergleich zu Mäusen (3,1 bis 4,5) und Ratten (3,0 bis 5,0) lässt die Möglichkeit offen, dass beim Menschen ein höherer Anteil von Glycidol in 3-MCPD umgewandelt wird. Untersuchungen, ob diese Umwandlung bei Glycidol-Fettsäureestern eine Rolle spielt, liegen nicht vor.

Glycidol kann aufgrund seiner (elektrophilen) Epoxidstruktur direkt mit zur Verfügung stehenden Nucleophilen reagieren (z.B. mit SH-Gruppen aus Proteinen und GSH; *in-vitro* ist auch die Reaktion mit DNA belegt: Segal et al., 1990) oder enzymatisch (unter Einwirkung von Epoxidhydrolase) bzw. nicht enzymatisch unter Bildung von Glycerin hydrolysiert wer-

² eine Übersicht über pH-Wert Unterschiede im Magen verschiedener Spezies ist dem Dokument „Guidance on information requirements and chemical safety assessment Chapter R.7c: Endpoint-specific guidance“ im Abschnitt R.7.12 „Guidance on toxicokinetics“ zu entnehmen. Dieses Dokument ist auf der ECHA-Website abrufbar unter: http://guidance.echa.europa.eu/docs/guidance_document/information_requirements_r7c_en.pdf?vers=20_08_08

den. Die durch Epoxidhydrolasen katalysierte Bildung von Glycerin aus Glycidol wurde *in-vitro* durch Inkubationen mit Rattenleber- und Lungenmikrosomen belegt (Patel et al., 1990). Glycidol wird mit Glutathion konjugiert. Nach Inkubation von ¹⁴C-markiertem Glycidol mit Glutathion in „rat liver soluble fraction“ wurde das Konjugat S-(2,3-dihydroxypropyl-Glutathion (50-60 % der Radioaktivität) und Glycerin (30-35 % der Radioaktivität) nachgewiesen (Jones, 1975). Auch bei intraperitoneal mit Glycidol behandelten Ratten war S-(2,3-Dihydroxypropyl)-Glutathion und das daraus entstandene Folgeprodukt S-(2,3-Dihydroxypropylcystein) im Urin analytisch bestimmbar (NTP 1990).

3.4.3 Gentoxische und karzinogene Wirkungen von Glycidol

Glycidol ist in der Lage, DNA direkt zu alkylieren und bildet *in-vitro* bei Inkubation mit gereinigter DNA Addukte (Segal et al., 1990). Dies kann zur Induktion gentoxischer Effekte durch Glycidol führen. Glycidol wirkte mutagen in *in-vitro* Testsystemen mit Prokaryoten sowohl mit als auch ohne Zusatz eines metabolischen Aktivierungssystems (Wade et al., 1979; Thompson et al., 1981; NTP 1990). In verschiedenen Säugerzellen induzierte Glycidol *in-vitro* ein weites Spektrum gentoxischer Effekte (Genmutationen, chromosomale Aberrationen, Schwesterchromatid-Austausche, außerplanmäßige DNA-Synthese), in den meisten Fällen sowohl mit als auch ohne Zusatz eines metabolischen Aktivierungssystems (IARC 2000; MAK 2000). Auch *in-vivo* war Glycidol in der Lage, bei Nagern nach intraperitonealer Injektion die Bildung von Mikrokernen in Knochenmarkszellen auszulösen (NTP 1990). Zur Induktion chromosomaler Aberrationen bei Nagern *in-vivo* existieren Publikationen, die über unterschiedliche Resultate berichten: positive Ergebnisse bei Thompson und Gibson (1984) zitiert in MAK (2000); negative Ergebnisse bei Thompson und Hiles (1991) zitiert in IARC (2000).

Hinsichtlich einer oralen Langzeit-Exposition gegenüber kleinen Glycidol-Mengen ist das Risiko für die mögliche Entstehung von Krebs als wichtigster Endpunkt zu betrachten. Hierbei sind insbesondere die Studien des ‚National Toxicology Program‘ (NTP) aus dem Jahr 1990 von Relevanz, bei denen Mäuse und Ratten über 2 Jahre Glycidol über eine Schlundsonde erhielten (NTP 1990):

Gruppen von jeweils 50 männlichen und 50 weiblichen B6C3F₁-Mäusen erhielten 0 oder 25 oder 50 mg Glycidol pro kg Körpergewicht an 5 Tagen pro Woche für insgesamt 103 Wochen. Die Überlebensrate der weiblichen Mäuse in der hohen Dosisgruppe war am Ende der Studie gegenüber der Kontrollgruppe signifikant erniedrigt. Bei der Gewebeuntersuchung zeigte sich eine signifikant erhöhte Inzidenz von Tumoren der Harderschen Drüse bei männlichen und weiblichen Tieren, die bei den weiblichen Tieren auch schon in der niedrigen Dosierung signifikant war. Bei den männlichen Tieren waren zudem bei der hohen Dosisgruppe die Inzidenzen von Adenomen/Karzinomen der Leber, von Plattenepithel-Papillomen des Vormagens und der Haut sowie von alveolaren/bronchialen Tumoren der Lunge signifikant erhöht. Bei den weiblichen Tieren der hohen Dosisgruppe traf dies für Adenokarzinome der Brustdrüse und für Sarkome/Fibrosarkome der Subkutis zu.

Gruppen von jeweils 50 männlichen und 50 weiblichen Fischer 344 Ratten erhielten 0 oder 37,5 oder 75 mg Glycidol pro kg Körpergewicht an 5 Tagen pro Woche für insgesamt 103 Wochen. Bei männlichen und weiblichen Tieren war die Überlebensrate in beiden Behandlungsgruppen signifikant erniedrigt. Bei der Gewebeuntersuchung zeigte sich eine signifikant erhöhte Inzidenz von Mesotheliomen von Tunica vaginalis und Peritoneum, von Gliomen des Gehirns und von bestimmten Hauttumoren bei den männlichen Tieren beider Dosisgruppen; bei ihnen war die Inzidenz-Erhöhung von Tumoren des Vormagens, des Darms, der Brustdrüse, der Schilddrüse sowie der Zymbaldrüse nur in der hohen Dosisgruppe signifikant. Bei

den weiblichen Tieren zeigte sich in beiden Dosisgruppen eine erhöhte Inzidenz von Tumoren der Brustdrüse, des Vormagens und des Gehirns; bei ihnen war die Inzidenz-Erhöhung von Tumoren der Klitoris-Drüse, von Tumoren im Bereich der Mundschleimhaut und von Leukämien nur in der hohen Dosisgruppe signifikant.

Zusammenfassend ist Glycidol als Kanzerogen mit gentoxischem Wirkmechanismus zu bewerten, das nach oraler Applikation in verschiedenen Geweben eine Krebsbildung auslösen kann. Nierentumore wurden allerdings nicht beobachtet. Offensichtlich ist die anzunehmende Umsetzung von Glycidol zu 3-MCPD im Magen durch Einwirkung von Salzsäure zumindest bei Nagetieren nicht quantitativ, da 3-MCPD in charakteristischer Weise Nierentumoren bei der Ratte induziert (BfR 2007).

Aus dem Wirkungsspektrum ergibt sich, dass für Glycidol kein toxikologisch unbedenklicher Schwellenwert bzw. kein TDI-Wert abgeleitet werden kann. Entsprechend gilt das Minimierungsprinzip (ALARA-Prinzip), nach dem alle Anstrengungen unternommen werden müssen, die Exposition der Verbraucher so niedrig wie möglich zu halten.

3.4.4. Quantifizierung des Gefährdungspotenzials

Die oben im Detail dargestellten Ergebnisse der NTP-Studien mit Mäusen und Ratten lassen sich für eine quantitative Auswertung nutzen: zur Ableitung einer Wirkdosis als Referenzwert zur Ermittlung eines ‚Margin of Exposure‘ (MoE). Die Anwendung dieses Bewertungskonzeptes für gentoxische Kanzerogene wurde 2005 von der EFSA vorgeschlagen (EFSA 2005). Der MoE-Wert ist eine dimensionslose Zahl, die das Verhältnis einer Wirkdosis im Tierversuch zur Expositionsdosis beim Menschen angibt. Mit dem MoE-Konzept wird versucht, das Ausmaß möglicher Risiken verschiedener in Lebensmitteln vorkommender gentoxischer Karzinogene vergleichend darzustellen. Dies gilt unter der Annahme, dass der Kurvenverlauf der Beziehung zwischen krebsauslösender Wirkung und Dosis bei den verschiedenen Substanzen vergleichbar ist.

Nach dem von der EFSA (2005) vorgelegten Konzept können für die Referenzwerte der Wirkdosis aus dem Tierexperiment zwei Parameter berechnet werden:

- T25 ist definiert als die chronische Dosis in mg/kg Körpergewicht pro Tag, die innerhalb der Lebensspanne bei 25 % der Tiere in einem bestimmten Gewebe Krebs verursacht; bei der Berechnung muss eine Korrektur bezüglich der spontan auftretenden Krebsrate in diesem Gewebe erfolgen. Damit die Besorgnis bezüglich eines möglichen Krebsrisikos für den Menschen als gering eingestuft werden kann, sollte ein auf T25 bezogener MoE-Wert größer als 25.000 sein.
- BMDL10 ist die Benchmarkdosis, bei der eine gegenüber Kontrolltieren 10 % höhere Inzidenz von Krebs in einem bestimmten Gewebe auftritt, wobei hier die untere Grenze des 95 %-Konfidenzintervalls ermittelt wird; die Berechnung setzt die Annahme eines konkreten mathematischen Modells für die Dosis-Wirkungs-Beziehung voraus und ist nur sinnvoll bzw. möglich, wenn genügend Daten mit verschiedenen Dosierungen zur Verfügung stehen. Damit die Besorgnis bezüglich eines möglichen Krebsrisikos für den Menschen als gering eingestuft werden kann, sollte ein auf BMDL10 bezogener MoE-Wert größer als 10.000 sein.

Im Fall der Daten aus der NTP-Studie mit 2 Dosierungen ist nur die Bestimmung des T25-Wertes sinnvoll. Der empfindlichste signifikante Effekt betrifft hier die Mesotheliom-Bildung in der Tunica vaginalis und im Peritoneum bei männlichen Ratten. Während 3 von 49 Tieren der Kontrollgruppe diesen Effekt zeigten, waren es bei der Dosierung von 37,5 mg Glycidol pro kg Körpergewicht 34 von 50 Tieren. Hier ist zu berücksichtigen, dass die Applikation nur

an 5 von 7 Tagen der Woche erfolgte. Bei entsprechender Dosiskorrektur errechnet sich aus den genannten Daten ein T25-Wert von 10,2 mg/kg Körpergewicht täglich. Für die weiter unten dargestellten Berechnungen von MoE-Werten entspricht dieser T25-Wert rechnerisch einem BMDL10-Wert von 4,06 mg/kg Körpergewicht täglich. Diese Umrechnung ist sinnvoll, weil BMDL10-Werte und daraus errechnete MoE-Werte für viele andere kanzerogene Stoffe (z.B. Acrylamid) vorliegen und so ein besserer Vergleich mit diesen Substanzen möglich wird.

Bei der Verwendung der genannten Referenzwerte im MoE-Konzept wird davon ausgegangen, dass der Anteil des oral aufgenommenen Glycidols bzw. des Glycidol-Fettsäureesters, der von der Salzsäure im Magen zu 3-MCPD bzw. 3-MCPD-Fettsäureester umgewandelt wird, bei Mensch und Nagetier vergleichbar ist.

3.4.5 Hypothetische Berechnungen zur möglichen Exposition gegenüber Glycidol und zum ‚Margin of Exposure‘ (MoE)

Die vom CVUA Stuttgart bestimmten Glycidol-Fettsäureester-Gehalte in raffinierten Speisefetten wurden bisher nicht mit validierten Methoden quantifiziert und von anderen Einrichtungen bestätigt. Zudem liegen bisher keine Daten für zusammengesetzte Speisefette wie z.B. Margarine vor. Für eine vorläufige überschlägige Expositionsabschätzung geht das BfR daher von der hypothetischen Annahme aus, dass der Glycidol-Gehalt im raffinierten Speisefett 1 mg/kg beträgt.

Bezüglich der Verzehrdaten von pflanzlichen Speisefetten bei Erwachsenen wurden in der Bewertung des BfR zu 3-MCPD-Fettsäureestern (BfR 2007) Erkenntnisse aus dem Ernährungssurvey des Robert Koch-Instituts (RKI 2002) verwendet. Bei den Männern, die im Vergleich zu Frauen mehr Fette verzehren, wurde von einer täglichen Verzehrsmenge von 20 g (75. Perzentile) bzw. 80 g Fett (Maximum) ausgegangen.

Hieraus ergibt sich eine hypothetische Glycidol-Exposition von 20 µg (75. Perzentile) bzw. 80 µg (Maximum) täglich, entsprechend 0,33 bzw. 1,33 µg/kg Körpergewicht bei einem Körpergewicht von 60 kg.

Aus diesen Werten berechnet sich entsprechend den im vorherigen Kapitel dargestellten Überlegungen ein MoE-Wert von 12.200 bzw. 3.050 (Bezugsgröße: BMDL10). Bei MoE-Werten von größer als 10.000 wird das vorliegende kanzerogene Risiko als eher niedrig eingestuft (EFSA 2005, BfR 2005). Dies wäre bei einem täglichen Verzehr von 20 g raffinierten Pflanzenfett bei Männern der Fall. Ein höheres Risiko bei dem höheren täglichen Fett-Verzehr von 80 g ist mit dem errechneten MoE-Wert von 3050 verbunden.

3.4.5.1 Situation bei nicht gestillten Säuglingen

Nicht gestillte Säuglinge sind in den ersten Wochen und Monaten ihres Lebens auf Säuglingsmilchnahrung angewiesen, die industriell aus einzelnen Komponenten hergestellt wird. Für den Fettanteil wird dabei überwiegend raffiniertes Pflanzenfett verwendet. Nicht gestillte Säuglinge haben im Alter von wenigen Monaten durch ihren hohen Energiebedarf und ihr starkes Wachstum einen körperrgewichtbezogenen deutlich höheren Fettbedarf als Erwachsene (maximal ca. 6 g/kg Körpergewicht kurz nach der Geburt), der derzeit überwiegend aus raffinierten pflanzlichen Fetten gedeckt wird: Die Kombination verschiedener pflanzlicher Öle führt in Säuglingsmilchnahrung zu einer mit Humanmilch vergleichbaren Fettsäurenverteilung. Als Lipidquelle dienen hierbei vor allem Sonnenblumen-, Raps- (Canola-), Saflor-, Lein-, Kokosnuss-, Haselnuss-, Soja-, Palm- und Palmkernöl (Ptok et al. 2006).

Wird für Fett von Säuglingsmilchnahrung ebenfalls hypothetisch angenommen, dass der Glycidol-Gehalt 1 mg/kg entspricht, ergibt sich für die maximale Belastung kurz nach der Geburt eine Glycidol-Exposition von 6 µg/kg Körpergewicht und entsprechend ein MoE-Wert von 670. Dieser Wert liegt in der Größenordnung von MoE-Werten für Acrylamid (zwischen 130 und 760, je nach Expositionsschätzung; O'Brian et al. 2006; Bezugsgröße: BMDL10).

Unter den getroffenen Annahmen (Glycidol-Gehalt entsprechend 1 mg/kg, vollständige Freisetzung aus der Ester-Bindung) würde dies eine Besorgnis bezüglich eines möglicherweise erhöhten Krebsrisikos bei nicht gestillten Kindern begründen. Dabei ist darauf hinzuweisen, dass die hohe Exposition nicht gestillter Kinder sich auf eine relativ kurze Lebensspanne erstrecken würde, während sich ein Vergleich von Risiken nach dem MoE-Konzept auf eine lebenslange Exposition bezieht. Auf der anderen Seite sind jedoch beim Blick auf mögliche kanzerogene Wirkungen bei Kindern grundsätzlich besonders strenge Maßstäbe bei möglicherweise vermeidbaren Expositionen gegenüber Substanzen mit kanzerogenem Wirkpotenzial anzusetzen.

Für eine genauere Betrachtung muss auch hier die quantitative Analyse von Glycidol-Fettsäureester-Gehalten in Säuglingsmilchnahrung vorliegen. Bereits jetzt kann jedoch festgehalten werden, dass unter der Vorgabe eines MoE-Wertes von mindestens 10.000 der als Glycidol berechnete Gehalt in für Säuglingsmilchnahrung verwendeten Fetten nicht höher als 0,067 mg/kg liegen sollte; die Empfindlichkeit der neu zu entwickelnden analytischen Methode muss diesen Bereich abdecken können. Im Fall von höheren Gehalten sollten alle Anstrengungen zur Reduktion unternommen werden; wie bereits bei der Bewertung von 3-MCPD-Fettsäureestern festgestellt (BfR 2007), gibt es in diesem Fall derzeit keine Ernährungsalternative für nicht gestillte Säuglinge.

3.5 Handlungsbedarf und Handlungsoptionen

3.5.1 Analytische Methoden-Entwicklung

Zur Entwicklung und Validierung einer geeigneten Analysenmethode für die quantitative Bestimmung des Glycidols bzw. seiner Fettsäureester in raffinierten Speisefetten und -ölen wird dringender Forschungsbedarf angemeldet.

3.5.2 Toxikologischer Forschungsbedarf

Zur Abklärung kinetischer Aspekte sind experimentelle Untersuchungen zur Bioverfügbarkeit von Glycidol aus Glycidol-Fettsäureestern (z.B. Vollständigkeit der Hydrolyse, pH-Abhängigkeit der Umsetzung zu 3-MCDP im Magen) notwendig.

3.5.3 Reduzierung der Gehalte

Entsprechend dem ALARA-Prinzip sollten alle Anstrengungen unternommen werden, um eine weitest mögliche Reduktion von Glycidol-Fettsäureestern in pflanzlichen Speisefetten zu erreichen. Hierzu sollten Änderungen in den technologischen Verfahren und ein möglicher Austausch gegen nicht raffinierte Fette geprüft werden.

4. Referenzen

ACGIH (American Conference of Governmental Industrial Hygienists) (1996): Glycidol. In: Documentation of TLVs and BEIs, ACGIH, Cincinnati, OH, USA.

BfR (2005) Risikobewertung genotoxischer und kanzerogener Stoffe soll in der EU harmonisiert werden. Stellungnahme Nr. 029/2005 des BfR vom 18. Mai 2005, www.bfr.bund.de/cm/208/risikobewertung_genotoxischer_und_kanzerogener_stoffe_soll_in_der_eu_harmonisiert_werden.pdf

BfR (2007) Säuglingsanfangs- und Folgenahrung kann gesundheitlich bedenkliche 3-MCPD-Fettsäureester enthalten. Stellungnahme Nr. 047/2007 des BfR vom 11. Dezember 2007 www.bfr.bund.de/cm/208/saeuglingsanfangs_und_folgenahrung_kann_gesundheitlich_bedenkliche_3_mcpd_fettsaeureester_enthalten.pdf

BfR (2008a) Protokoll zur 2. Sitzung der AG Analytik von 3-MCPD Fettsäureestern in raffinierten Speiseölen und -fetten vom 21.11.2008

BfR (2008b) Bericht zum Ringversuch 3-MCPD-FS-Ester in Speiseölen und -fetten sowie fetthaltigen Lebensmitteln Teil 1 vom 15.12.2008

EFSA (2005) Opinion of the Scientific Committee on a request from EFSA related to a harmonised approach for risk assessment of substances which are both genotoxic and carcinogenic. The EFSA Journal 282, 1-31

IARC (2000) Some Industrial Chemicals. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans, vol. 77. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer. pp 469-486

Jones AR (1975) The metabolism of 3-chloro-, 3-bromo- and 3-iodopropan-1,2-diol in rats and mice. Xenobiotica 5:155-165

MAK (2000) Glycidol. DFG-Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe (MAK-Kommission), 30. Lieferung

Nomeir AA, Silveira DM, Ferrala NF, Markham PM, McComosh MF, Ghanayem BI, Chadwick M (1995) Comparative disposition of 2,3-epoxy-1-propanol (glycidol) in rats following oral and intravenous administration. *J Tox Environ Health* 44:203-217

NTP (1990) Toxicology and carcinogenesis studies of glycidol (CAS No. 556-52-5) in F344/N rats and B6C3F1 mice (gavage studies). Technical Report Series No 374. NIH Publication No. 90-2829. Research Triangle Park, NC: National Toxicology Program. 229 pp.

O'Brien J, Renwick AG, Constable A, Dybing E, Müller DJ, Schlatter J, Slob W, Tueting W, van Benthem J, Williams GM, Wolfreys A (2006) [Approaches to the risk assessment of genotoxic carcinogens in food: a critical appraisal](#). *Food Chem Toxicol* 44:1613-1635

Patel JM, Wood JC, Leibman KC (1980) The biotransformation of allyl alcohol and acrolein in rat liver and lung preparations. *Drug Metab Dispos* 8:305-308

Ptok S, Kraft J, Jahreis G (2006) Zur Qualität der Lipide in Säuglingsmilchnahrungen. *Ernährungs-Umschau* 53:440-443

RKI (2002) "Ernährungssurvey" in: Beiträge zur Gesundheitsberichterstattung des Bundes. Was essen wir heute? Robert Koch-Institut, Berlin

Segal A, Solomon JJ, Mukai F (1990) In vitro reactions of glycidol with pyrimidine bases in calf thymus DNA. *Cancer Biochem Biophys* 11:59-67

Thompson ED, Hiles RA (1981) A method for determining the tolerated dose for *in vivo* cytogenetic analysis. *Food Cosmet Toxicol* 19:347-351

Thompson ED, Coppinger WJ, Piper CE, McCarroll N, Oberly TJ, Robinson D (1981) Mutagenicity of alkyl glycidyl ethers in three short-term assays. *Mutat Res* 90:213-231

Thompson ED, Gibson DP (1984) A method for determining the maximum tolerated dose for acute *in vivo* cytogenetic studies. *Food Chem Toxicol* 22:665-676

Wade MJ, Moyer JW, Hine CH (1979) Mutagenic action of a series of epoxides. *Mutat Res* 66:367-371