

Transglutaminase in Fleischerzeugnissen

Aktualisierte Stellungnahme Nr. 052/2011 des BfR vom 30. November 2011, ergänzt am 21. Januar 2013

Das Enzym Transglutaminase (TG) wird bei der Lebensmittelverarbeitung als „Kleber“ verwendet, um einzelne kleinere Fleischteile zu großen Fleischstücken zusammensetzen. Eingesetzt wird dabei üblicherweise Transglutaminase mikrobiellen Ursprungs (mTG). In der Öffentlichkeit wurde das Enzym in der Vergangenheit im Zusammenhang mit so genanntem „Klebeschinken“ diskutiert. In dieser Diskussion kam auch die Frage auf, ob mTG, wenn sie einem Lebensmittel zugesetzt wird, gesundheitliche Risiken für Zöliakie-Patientinnen und -Patienten birgt. Erkenntnisse zu mTG in "Enzymklebeschinken" lassen nicht darauf schließen, dass von dem Enzym selbst (auch in aktiver Form) bei gesunden Personen ohne Beeinträchtigung der Verdauungsfunktion ein relevantes gesundheitliches Risiko ausgeht. Bekannt ist, dass mTG verschiedene Proteinverbindungen bilden kann ("enzymatic cross-linking"). Deren Bewertung ist derzeit mangels ausreichender Daten nicht möglich. Dem BfR liegen Hinweise aus experimentellen Untersuchungen vor, dass mTG zusammen mit Nahrungsproteinen zu Verbindungen führen kann, die strukturell vergleichbar mit Gluten sind, das bei Zöliakie-Patientinnen und -Patienten die bekannten immunologischen Effekte bewirkt. Ob sich daraus jedoch für diese Patientinnen und Patienten gesundheitliche Risiken wie die typische Schädigung der Darmschleimhaut ergeben, ist gegenwärtig nicht sicher geklärt. Ausreichende klinische Studien liegen hierzu nicht vor, insofern ist ein klinisch relevantes Risiko für Zöliakie-Patientinnen und -Patienten durch mikrobielle Transglutaminase möglich. Eine geeignete Kennzeichnung von Lebensmitteln, die unter Verwendung von mTG hergestellt werden, würde es diesen Patienten ermöglichen, den in der Wissenschaft noch weiter zu klärenden Unsicherheiten aus dem Wege zu gehen. Darüber hinaus wären bei entsprechender Lebensmittelkennzeichnung auch alle Verbraucherinnen und Verbraucher über den Einsatz des „Enzym-Klebers“ besser informiert. Im Lebensmittelprodukt kann mTG etwa durch thermische Behandlung inaktiviert werden. Die Daten deuten darauf hin, dass ein Risiko für Zöliakie-Betroffene, sollte es überhaupt bestehen, dadurch praktisch auszuschließen wäre. Entscheidend ist nach wie vor, dass Zöliakie nur dann beherrschbar ist, solange Patientinnen und -Patienten vollständig auf Gluten verzichten.

1 Gegenstand der Bewertung

In der Diskussion um das Enzym Transglutaminase, welches bei der Lebensmittelverarbeitung u. a. zur Herstellung von sogenanntem "Klebeschinken" verwendet wird, wird auch auf mögliche gesundheitliche Risiken hingewiesen, insbesondere für Patienten mit Zöliakie. In diesem Zusammenhang hat das BfR die Frage möglicher gesundheitlicher Risiken bei der Verwendung von Transglutaminase geprüft und nimmt aus Sicht der Risikobewertung Stellung.

Dem Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) liegt eine Stellungnahme eines Herstellers von Transglutaminase zu dieser Fragestellung vor, wonach es keine Erkenntnisse dazu gebe, dass die Verwendung von Transglutaminase bei der Lebensmittelverarbeitung für Zöliakie-Patienten ein besonderes gesundheitliches Risiko darstelle (Firma Ajinomoto Europe S.A.S., 75817 Paris, 19.04.2010). Die genannte Firma stellt kommerziell mikrobielle Transglutaminase (mTG aus dem Bakterium *Streptovorticillium mobaraense*) zur Verwendung bei der Lebensmittelverarbeitung her.

BfR		BfR-Risikoprofil: Transglutaminase in Fleischerzeugnissen (Stellungnahme Nr. 052/2011)			
A	Betroffen sind	Verbraucher mit Glutenunverträglichkeit			
B	Wahrscheinlichkeit einer gesundheitlichen Beeinträchtigung bei Verzehr von Fleischerzeugnissen mit Transglutaminase	Praktisch ausgeschlossen	Unwahrscheinlich	Möglich	Wahrscheinlich Gesichert
C	Schwere der gesundheitlichen Beeinträchtigung bei Verzehr von Fleischerzeugnissen mit Transglutaminase	Schwere nicht bekannt [1]			
D	Aussagekraft der vorliegenden Daten	Hoch: Die wichtigsten Daten liegen vor und sind widerspruchsfrei	Mittel: Einige wichtige Daten fehlen oder sind widersprüchlich	Gering: Zahlreiche wichtige Daten fehlen oder sind widersprüchlich	
E	Kontrollierbarkeit durch Verbraucher [2]	Kontrolle nicht notwendig	Kontrollierbar durch Vorsichtsmaßnahmen	Kontrollierbar durch Verzicht	Nicht kontrollierbar

Dunkelblau hinterlegte Felder kennzeichnen die Eigenschaften des in dieser Stellungnahme bewerteten Risikos (nähere Angaben dazu im Text der Stellungnahme 052/2011 des BfR vom 30. November 2011).

Erläuterungen

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

Zeile C – Schwere der gesundheitlichen Beeinträchtigung:

[1] – Aufgrund der vorliegenden Daten kann die Schwere des potenziellen Risikos derzeit nicht quantifiziert werden.

Zeile E - Kontrollierbarkeit durch Verbraucher

[2] – Die Angaben in der Zeile „Kontrollierbarkeit durch Verbraucher“ sollen keine Empfehlung des BfR sein, sondern haben beschreibenden Charakter. Das BfR hat in seiner Stellungnahme Handlungsempfehlungen abgegeben. Das BfR empfiehlt eine Kennzeichnung, ohne die Zöliakie-Betroffene derzeit nicht feststellen können, ob ein Produkt Transglutaminase enthält.

BUNDESINSTITUT FÜR RISIKOBEWERTUNG (BfR)

Des weiteren liegt dem BfR ein Bericht der "IG Zöliakie der Deutschen Schweiz" vom 07.05.2010 vor, wonach in der schweizerischen Verbraucherzeitschrift "k-tipp", Ausgabe 9/2010, darauf hingewiesen wird, dass das schweizerische Bundesamt für Gesundheit (BAG) beabsichtigt, einen Verbraucherhinweis für mit Transglutaminase hergestellte Fleischerzeugnisse einzuführen, insbesondere um Zöliakie-Betroffene zu informieren (<http://www.zoeliakie.ch/news/artikel/transglutaminase-schaedlich-fuer-zoeliakie-betroffene/>).

Der in der Schweiz inzwischen vorgeschriebene Verbraucherhinweis betrifft Produkte, die unmittelbar zum Verzehr bestimmt sind. Produkte, die vor dem Verzehr erhitzt werden, sind von dem Hinweis nicht betroffen (<http://www.zoeliakie.ch/news/artikel/mit-transglutaminase-behandeltes-fleisch/>).

2 Ergebnis

Die im BfR vorliegenden Erkenntnisse zu mikrobieller Transglutaminase (mTG) bei der Verwendung zur Rekonstitution bzw. Restrukturierung von Fleischabschnitten ("Enzymklebeschinken") geben nicht zu der Vermutung Anlass, dass von dem Enzym selbst (auch in aktiver Form) in Lebensmitteln bei gesunden Personen ohne Beeinträchtigung der physiologi-

schen Magen- und Verdauungsfunktion ein relevantes gesundheitliches Risiko ausgeht. Allerdings sind belastbare Aussagen über Konsequenzen, die sich aus der Aufnahme der durch Verwendung von mikrobieller Transglutaminase gebildeten verschiedenen Proteinverbindungen ("enzymatic cross-linking") für den Menschen ergeben können, derzeit mangels ausreichender Daten nicht möglich.

Hinsichtlich der Zöliakie ist festzustellen, dass Hinweise aus experimentellen Untersuchungen - darunter auch Bestimmungen immunologischer Parameter beim Menschen - vorliegen, dass mikrobielle Transglutaminase zusammen mit Nahrungsproteinen, insbesondere aus Getreide, zu bestimmten Epitopen (antigene Determinanten) führen kann. Diese Epitope sind strukturell vergleichbar mit denen des Glutens, welche bei Zöliakie die bekannten immunologischen Effekte bewirken. Inwieweit man aus diesen Hinweisen relevante Effekte auf die klinische Situation von Menschen mit Zöliakie ableiten kann und sich daraus für diese Patienten gesundheitliche Risiken wie die typische mukosaschädigende Wirkung ergeben, ist zum gegenwärtigen Zeitpunkt nicht sicher geklärt. Ausreichende klinische Studien liegen hierzu nicht vor. Ein klinisch relevantes Risiko ist mit geringer Wahrscheinlichkeit möglich. Der Vorschlag aus der Schweiz, Lebensmittel mit mikrobieller Transglutaminase speziell für Zöliakie-Betroffene zu kennzeichnen, könnte hilfreich sein, da diesen Patienten damit ermöglicht würde, den bestehenden und in der Wissenschaft noch weiter zu klärenden Unsicherheiten aus dem Wege zu gehen. Die Daten deuten darauf hin, dass ein möglicherweise bestehendes Risiko für Zöliakie-Betroffene minimiert bzw. praktisch auszuschließen wäre, wenn mTG im Lebensmittelendprodukt inaktiviert wird, etwa durch ausreichende thermische Behandlung. Entscheidend ist nach wie vor, dass Zöliakie nur dann beherrschbar ist, solange die übliche Gluten vermeidende Diät eingehalten wird.

Das BfR macht darauf aufmerksam, dass eine Rekonstitution von Fleischabschnitten mittels mikrobieller Transglutaminase - zumindest wenn das verwendete Enzym und die spezifische Produktverarbeitung nicht gekennzeichnet werden - zu einer Irreführung der Verbraucherinnen und Verbraucher führen kann.

Die vorliegende Stellungnahme lässt möglicherweise bestehende hygienische Bedenken gegenüber der Rekonstitution von Fleischabschnitten mittels mikrobieller Transglutaminase unberücksichtigt. Auch ist die vorliegende gesundheitliche Bewertung keine Sicherheitsbewertung von Quelle und Herstellungsprozess der in Rede stehenden mikrobiellen Transglutaminase (mTG aus *Streptoverticillium mobaraense*) zur Verwendung in der Lebensmitteltechnologie. Das BfR verweist auf die Verordnung (EG) Nr. 1332/2008 vom 16.12.2008, welche den Einsatz von Lebensmittelenzymen, die aus technologischen Gründen in Lebensmitteln eingesetzt werden, weitergehend regelt, u. a. durch Erstellung einer Positivliste.

3 Begründung

Transglutaminasen (TG) gehören zu einer Gruppe von Enzymen, die in der Natur weit verbreitet sind, z. B. in Mikroorganismen, im Muskelfleisch von Fischen, in Muscheln, aber auch in der Leber und im Blut von Säugetieren sowie beim Menschen. Beim Menschen sind mehrere Isoenzyme bekannt. Es handelt sich um Enzyme aus der Klasse der Transferasen. Transglutaminasen katalysieren Acyl-Transfer-Reaktionen (zwischen γ -Carboxyamid-Gruppen von proteingebundenem Glutamin), Desamidierungen und die (Quer-)Vernetzung von Proteinen (Isopeptidbindungen, v. a. zwischen Lysin und Glutamin). Im menschlichen Organismus sind verschiedene Transglutaminasen mit Funktionen z. B. bei der Blutgerinnung sowie beim Gewebeaufbau beschrieben (Malandain, 2005). Vereinfacht gesagt sind Transglutaminasen "biologische Kleber", die hochmolekulare Proteinstrukturen aufbauen.

In der Lebensmittelverarbeitung wird Transglutaminase (IUBMB Enzyme Nomenclature: EC 2.3.2.13, CAS-Nr. 80146-85-6, chemischer Name: Protein-Glutamin γ -Glutamyltransferase, <http://www.chem.qmul.ac.uk/iubmb/enzyme/EC2/3/2/13.html>) als Verarbeitungshilfsstoff z. B. für die Herstellung von rekonstituiertem Fleisch oder Fisch eingesetzt. Das Enzym hat bei der Herstellung von Lebensmitteln einen erheblichen Einfluss auf Eigenschaften wie Textur, Festigkeit und Elastizität, zum Teil auch auf den Geschmack der Endprodukte. Es kann verwendet werden, um Fleischabschnitte wieder zu größeren Stücken zusammenzufügen ("Klebeschinken", genauer gesagt "Enzymklebeschinken") sowie bei der Verarbeitung von Brühwurstwaren und der Herstellung von Surimi aus Fischabschnitten. Auch Proteine in Lebensmitteln pflanzlicher Herkunft können mit Transglutaminase behandelt werden (Dube et al., 2007; De Jong/Koppelman, 2002; Kantonales Laboratorium Thurgau, Jahresbericht 2002, http://www.kantlab.tg.ch/documents/Jahresbericht_2002.pdf; Aalami/Leelavathi, 2008). Untersuchungen zeigen, dass eine thermische Behandlung von zwei Minuten Dauer bei einer Temperatur von 80°C eine Inaktivierung des Enzyms bewirkt (Menendez et al., 2006). Hinweise auf eine mögliche Beeinflussung der Allergenität von Proteinen durch Transglutaminase liegen vor, möglicherweise im Sinne einer Abnahme (Zhu/Tramper, 2008; Malandain, 2005). Ein besonderes allergenes Potential des Enzyms selbst ist aufgrund vorliegender Daten nicht anzunehmen (Dube et al., 2007; Pedersen, 2004). Neben Transglutaminase wird mit ähnlicher Zweckbestimmung auch der Stoff Thrombin in der Lebensmittelverarbeitung eingesetzt (Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit, AGES, <http://www.ages.at/ages/ernaehrungssicherheit/thema-ernaehrung/faq-klebefleisch/>). Das BfR macht in diesem Zusammenhang auf die kritische Diskussion des EU-Parlaments zum Einsatz von Thrombin für die Verwendung in Lebensmitteln zur Rekonstitution von Fleischabschnitten im Mai 2010 aufmerksam.

Nach Kenntnis des BfR ist die in der Lebensmittelindustrie kommerziell genutzte Transglutaminase mikrobiellen Ursprungs (mikrobielle Transglutaminase, mTG aus dem Bakterium *Streptovorticillium mobaraense*) chemisch eine Polypeptidkette mit einem Molekulargewicht von 38000 Da und besteht aus 331 Aminosäuren mit einem Cystein-Rest im aktiven Zentrum (http://www.ajinomoto.de/cms/front_content.php?idcat=99; Kikuchi et al., 2003; Engel et al., 2000; Zellner, 2000).

Dem BfR ist das Ausmaß der Verwendung von mikrobieller Transglutaminase bei der Lebensmittelverarbeitung nicht bekannt, ebenso wenig, welche Mengen des Enzyms bei welchen Lebensmitteln eingesetzt werden und welche Enzym-Mengen im jeweiligen Endprodukt - auch in aktiver Form - vorliegen und vom Verbraucher verzehrt werden. Gemäß Angaben des Herstellers Ajinomoto Europe liegt im Enderzeugnis keine technologische Wirkung von mTG mehr vor, selbst wenn inaktive Reste technisch unvermeidbar wären (<http://www.transglutaminase.com/de/news-1>, Krell, Weyland, Grube, 2010). Unter Vorbehalt werden Literaturangaben zitiert, wonach mit einer maximalen täglichen Aufnahme von mTG über Lebensmittel von geschätzt etwa 8-13 mg, bis zu 15 mg zu rechnen wäre und zur Rekonstitution bei der Lebensmittelverarbeitung pro Kilogramm Lebensmittel ca. 50-100 mg mTG eingesetzt werden (Malandain, 2005; Pedersen, 2004). Über Versuche aus der Lebensmitteltechnologie, mit Mengen bis zwei Gramm mTG pro Kilogramm Lebensmittel bei der Brühwurstherstellung zu arbeiten, wurde berichtet (Eberhard et al., 2009). Mikrobielle Transglutaminase hat in den USA von der Food and Drug Administration (FDA) den GRAS-Status (Generally Recognized As Safe) erhalten. Dabei werden Enzymmengen in verschiedenen Lebensmitteln von 25 ppm (parts per million) bis 250 ppm angegeben (http://www.accessdata.fda.gov/scripts/fcn/gras_notices/grn0095.pdf).

In der Schweiz wird Transglutaminase nicht als Verarbeitungshilfsstoff beurteilt, sondern als kennzeichnungspflichtige Zutat. Dort unterstehen rekonstituierte Lebensmittel, die unter Einsatz von mikrobieller Transglutaminase (mTG) hergestellt werden, gemäß Artikel 5 Absatz 1 der Lebensmittel- und Gebrauchsgegenständeverordnung (SR 817.02) der Bewilligungspflicht. Darüber hinaus müssen Erzeugnisse, die mit Transglutaminase hergestellt wurden, entsprechend gekennzeichnet werden, da sie für den durchschnittlich informierten Verbraucher in ihrer Form und ihrer sonstigen Erscheinung kaum von natürlich gewachsenen Fleischstücken zu unterscheiden sind. Deshalb soll in der Schweiz in der Produktkennzeichnung sowohl auf die Rekonstitution, als auch auf die Natur der verwendeten „Klebstoffe“ (hier: Transglutaminase) hingewiesen werden.

Bei der Pathogenese der Zöliakie (Enteropathie infolge immunologisch bedingter Unverträglichkeit von Gluten/Gliadin aus Weizen und bestimmten anderen Getreiden) spielt körpereigene Gewebs-Transglutaminase (tissue-Transglutaminase, tTG) eine wichtige Rolle, u. a. bei der Präsentation der Antigene gegenüber bestimmten Immunzellen. Die Zöliakie geht mit einer erhöhten Aktivität der Gewebs-Transglutaminase (tTG) in den Darmepithelzellen einher. Die Bestimmung von IgA-Antikörpern gegen tTG ist ein wichtiger diagnostischer Parameter. Die Funktion der tTG wird in der wissenschaftlichen Diskussion in Verbindung gestellt mit der Überlegung, dass mTG zusammen mit Nahrungsproteinen, insbesondere aus Getreide, bestimmte Epitope (antigene Determinanten) bilden können, die strukturell vergleichbar sind mit denen des durch tTG veränderten Glutens, welche bei Zöliakie-Betroffenen die typischen Entzündungsprozesse bewirken (Gerrard/Sutton, 2005; Dube et al., 2007; Cabrera-Chavez et al., 2008 und 2009; Malandain, 2005). Es kann nicht ausgeschlossen werden, dass aktive mTG in Lebensmitteln die intestinale Immunreaktivität steigern und eine Verstärkung des Entzündungsprozesses triggern, auch wenn hierfür bisher lediglich in vitro- und ex vivo-Daten vorliegen (Berti et al., 2007, Cabrera-Chavez et al., 2008, 2009). Daneben werden in der wissenschaftlichen Diskussion auch Aspekte angesprochen, inwieweit eine "Detoxifizierung" von Gluten mittels kontrollierter Behandlung mit Transglutaminase möglich sein könnte, mit dem Ziel, diese Proteine künftig für Zöliakie-Betroffene verträglich machen zu können. Hierzu liegen experimentelle Untersuchungen vor (Schuppan/Junker, 2007; Gianfrani et al., 2007; Berti et al., 2007), die Daten und vorläufigen Erkenntnisse zu diesem Aspekt sind jedoch im Wesentlichen unzureichend.

4 Referenzen

- Aalami M, Leelavathi K (2008) Effect of microbial transglutaminase on spaghetti Quality. *J Food Sci.* 73: C306-C312.
- Berti C, Roncoroni L, Falini ML, Caramanico R, Dolfini E, Bardella MT, Elli L, Terrani C, Forlani F (2007): Celiac-related properties of chemically and enzymatically modified gluten proteins. *J Agric Food Chem.* 55: 2482-2488.
- Cabrera-Chavez F, Rouzaud-Sandez O, Sotelo-Cruz N, Calderon de la Barca AM (2008). Transglutaminase Treatment of wheat and maize prolamins of bread increases the serum IgA reactivity of celiac disease patients. *J Agric Food Chem.* 56: 1387-1391.
- Cabrera-Chavez F, Rouzaud-Sandez O, Sotelo-Cruz N, Calderon de la Barca AM (2009). Bovine Milk caseins and transglutaminase-treated cereal prolamins are differentially recognized by IgA of celiac disease patients according to their age. *J Agric Food Chem.* 57: 3754-3759.
- De Jong GAH, Koppelman SJ (2002). Transglutaminase catalyzed reactions: impact on food applications. *J Food Sc.* 67: 2798-2806.
- Engel KH, Moreano F, Sakamoto J (2000). Mikrobielle Transglutaminase in der Lebensmittelindustrie. In: *Enzyme in der Lebensmitteltechnologie*. Hrsg. Klaus Lösche, 1. Auflage 2000, B. Behr's Verlag GmbH & Co., Hamburg.
- Dube M, Schäfer C, Neidhart S, Carle R (2007). Texturisation and modification of vegetable proteins for food applications using microbial transglutaminase. *Eur Food Res Technol*, 225: 287-299.
- Eberhard P, Schlüchter S, Guggisberg D, Hadorn R (2009). Transglutaminase als Phosphatersatz in Brühwürsten? *Fleisch und Feinkost.* 8: 20-21.
- Gerrard JA, Sutton KH (2005). Addition of transglutaminase to cereal products may generate the epitope responsible for coeliac disease. *Trends Food Sci Technol.* 16: 510–512.
- Gianfrani C, Siciliano RA, Facchiano AM, Camarca A, Mazzeo MF, Costantini S, Salvati VM, Maurano F, Mazzarella G, Iaquinto G, Bergamo P, Rossi M (2007): Transamidation of wheat flour inhibits the response to gliadin of intestinal T cells in celiac disease. *Gastroenterology.* 133: 780-789.
- Kikuchi Y, Date M, Yokoyama K, Umezawa Y, Hiroshi Matsui H (2003). Secretion of active-Form *Streptovorticillium mobaraense* transglutaminase by *Corynebacterium glutamicum*: processing of the pro-transglutaminase by a cosecreted subtilisin-like protease from *Streptomyces albogriseolus*. *Appl Environ Microbiol.* 69: 358-366.
- Krell Weyland Grube (2010). Rechtliche Würdigung des Einsatzes von Transglutaminase in rohen und erhitzten Fleischprodukten in Deutschland. Gummersbach, 20.04.2010, <http://www.transglutaminase.com/sites/default/files/Documents/Statement%20TG%20in%20Germany%20-%20Krell%20Weyland%20Grube%20-%20DE.pdf>.
- Pedersen MH, Hansen TK, Sten E, Seguro K, Ohtsuka T, Morita A, Bindslev-Jensen C, Poulsen LK (2004): Evaluation of the potential allergenicity of the enzyme microbial transglutaminase using the 2001 FAO/WHO Decision Tree. *Mol Nutr Food Res.* 48: 434-440.

Malandain H (2005). Transglutaminases: a meeting point for wheat allergy, celiac disease, and food safety. *Eur Ann Allergy Clin Immunol.* 37: 397-403.

Menendez O, Rawel H, Schwarzenbolz U, Henle T (2006). Structural changes of microbial transglutaminase during thermal and high-pressure treatment. *J Agric Food Chem.* 54: 1716-1721.

Schuppan D, Junker Y (2007): Turning swords into plowshares: transglutaminase to detoxify gluten. *Gastroenterology.* 133:1025-1038.

Zellner M (2000). Transglutaminase – Proteine natürlich vernetzen. In: *Enzyme in der Lebensmitteltechnologie.* Hrsg. Klaus Lösche, 1. Auflage 2000, B. Behr's Verlag GmbH & Co., Hamburg.

Zhu Y, Tramper J (2008). Novel applications for microbial transglutaminase beyond food processing. *Trends Biotechnol.* 26: 559-565.