

Natürlich riskant

Kanzerogene Lebensmittelinhaltsstoffe: Phenylpropene

Alexander Cartus und Prof. Dr. Dr. Dieter Schrenk

Fachrichtung Lebensmittelchemie und Toxikologie, Technische Universität Kaiserslautern

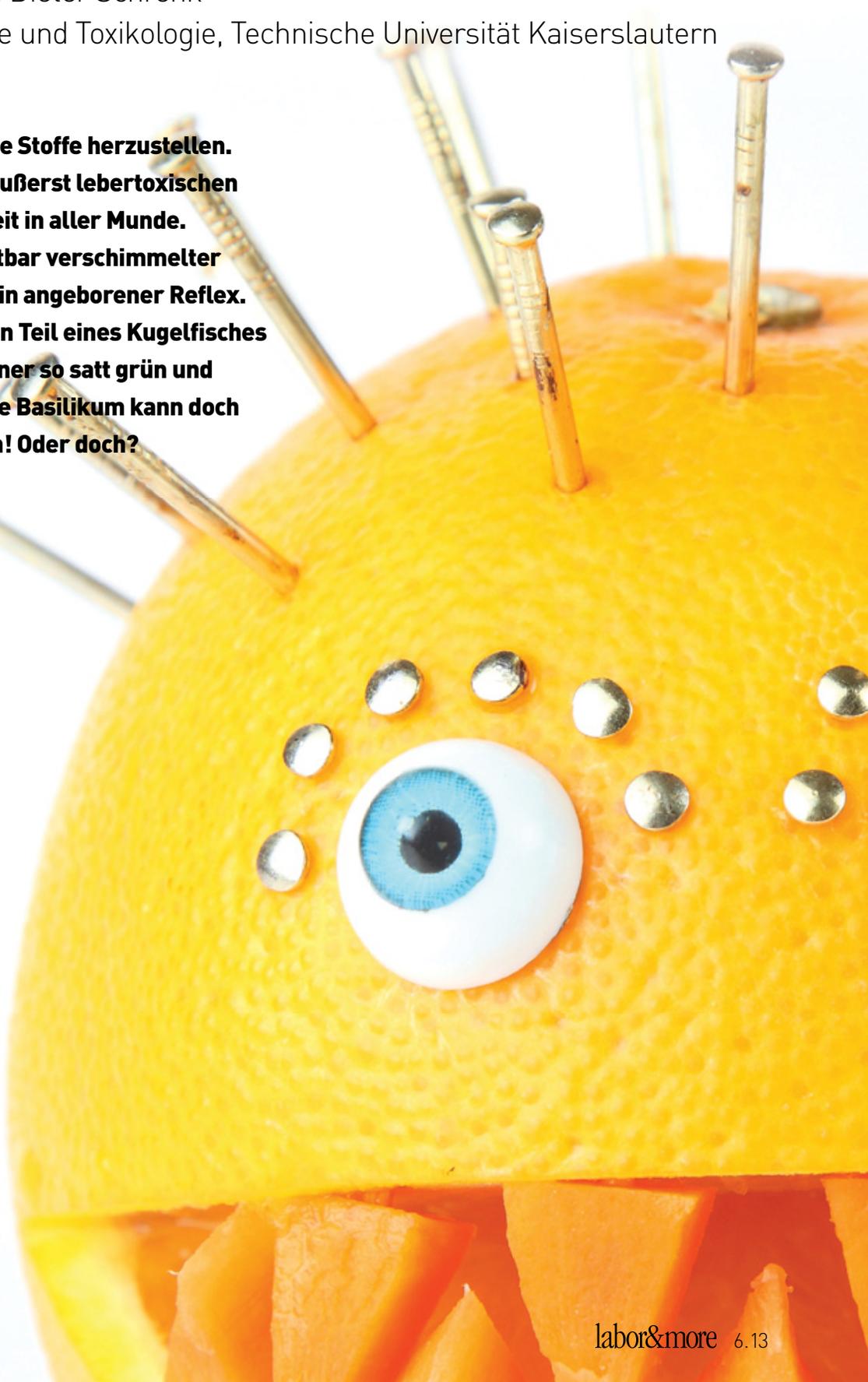
Die Natur versteht es meisterhaft, giftige Stoffe herzustellen. Die von Schimmelpilzen produzierten, äußerst lebertoxischen und kanzerogenen Aflatoxine sind zurzeit in aller Munde. Dass man freiwillig auf den Genuss sichtbar verschimmelter Lebensmittel verzichtet, ist schon fast ein angeborener Reflex. Auch einen Fliegenpilz oder den falschen Teil eines Kugelfisches sollte man möglichst meiden. Aber in einer so satt grün und gesund aussehenden Gewürzpflanze wie Basilikum kann doch nun wirklich nichts Ungesundes stecken! Oder doch?

Lebensmittel (LM) können eine Vielzahl unerwünschter Stoffe enthalten, die sich z. B. auf die Haltbarkeit oder sensorischen Eigenschaften auswirken oder aber ernste toxikologische Gefahren bergen. Sie können gezielt mit dem LM in Kontakt gebracht und nur unvollständig entfernt werden (z. B. Pestizid- oder Antibiotikarückstände) oder sie kontaminieren das Lebensmittel ungewollt wie Dioxin in Eiern.

Und doch: Auch Basilikum und viele andere kerngesund aussehende Pflanzen stellen selbst toxikologisch zumindest bedenkliche Stoffe her: Phenylpropene (PP).

Kanzerogenität und Aktivierung

Bereits in den 1970er-Jahren beobachtete man in Tierversuchen an Ratten oder Mäusen, dass einige PP Adenome und Karzinome verursachen können, wobei die Leber das Hauptzielorgan darstellt. Hierzu zählen die allylischen PP Methyleugenol (ME), Estragol und Safrol sowie die propenylischen Verbindungen α - und β -Asaron sowie Isoeugenol (Tab. 1).



Metabolisierung verantwortlich für Kanzerogenität

Die Muttersubstanzen sind nicht direkt für die toxischen Wirkungen verantwortlich, sondern erst die vom Körper gebildeten Metaboliten. Das eigentliche Ziel dieser Metabolisierungen besteht darin, endogene oder exogene (Gift)-Stoffe über den Harn oder die Galle auszuscheiden, indem die Hydrophilie der Substanzen erhöht wird. Hierbei können aber auch toxischere Zwischenprodukte gebildet werden wie im Falle allylischer PP (Abb. 1). Zunächst findet eine von Cytochrom-P450-Enzymen (CYP)

katalysierte Hydroxylierung in 1'-Position der Allylseitenkette statt (Phase-I, z. B. in der Leber). Anschließend wird der entstandene Alkohol durch Sulfotransferasen (SULT) sulfoniert (Phase-II, z. B. in Leber oder Niere). Der Sulfatester zerfällt spontan in Sulfat und ein reaktives mesomeriestabilisiertes Carbokation. Dieses ultimale Kanzerogen ist ein starkes Elektrophil und kann mit DNA Addukte bilden, die Mutationen und in der Folge Tumoren auslösen können. Durch die Beteiligung der Sulfonierung an der Aktivierung allylischer PP sind die Verbindungen oft negativ in klassischen Mutagenitätstests wie dem Ames-Test, da diesen Testsystemen i. d. R. die SULT-Aktivität fehlt.

Weitere Reaktionswege sind die Epoxidierung der Seitenkette, Demethylierung oder die Oxidation der gebildeten Alkohole durch Alkoholdehydrogenasen oder CYPs. Diese Reaktionen liefern zwar durchaus reaktive Metaboliten, welche in vitro gentoxische Effekte haben [1]. Dennoch wird deren Bildung als Detoxifizierung angesehen, da die gebildeten Metaboliten schnell von Glutathion oder Aminosäuren abgefangen werden können und in vitro keine oder kaum DNA-Addukte bilden [2].

Phenylpropene

PP bestehen aus einem Benzolring, der mit einer ungesättigten C3-Seitenkette und oft verschiedenen Sauerstofffunktionen substituiert ist. Je nach Position der Doppelbindung in der Seitenkette unterscheidet man Allyl- und Propenyl-PP. Es sind sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe und dienen den Pflanzen vermutlich als Lockstoffe für potenzielle Bestäuber und gleichzeitig als konstitutive Pflanzenabwehrstoffe. Sie kommen v. a. in Kräutern und Gewürzen, aber auch verschiedenen Obst- und Gemüsesorten sowie Tees natürlich vor. Aufgrund ihres angenehmen Geruches werden sie Lebensmitteln und Kosmetika auch als Aroma- und Duftstoffe gezielt zugesetzt. Eine Auswahl verschiedener PP, deren Hauptquellen und toxikologische Eigenschaften sind in Tabelle 1 wiedergegeben.

ILMAC²⁰¹³
Basel 24.-27. September

Containment Solutions



**Besuchen Sie uns
in Halle 1.1, Stand B99**



a schunk company

Weiss GWE GmbH

Wiechmannsallee 3, 27798 Hude, Germany

Fon: +49 (0) 4484 /189-0

Fax: +49 (0) 4484 /189-189

contact@gwe.de, www.gwe.de

food chemistry

Strukturelle Vielfalt

Klare Strukturmerkmale, die die Kanzerogenität bestimmen, sind nicht ohne Weiteres auszumachen. So ist die Allyl-Seitenkette keineswegs eine Grundvoraussetzung. Auch wenn die Mehrheit der propenylischen Verbindungen toxikologisch unproblematisch ist, gibt es Ausnahmen: α - und β -Asaron sowie das nicht gentoxische Isoeugenol wirken im Tierversuch kanzerogen. Obgleich eine direkte Hydroxylierung in 1'-Position eigentlich ausgeschlossen scheint, findet man einen solchen Metaboliten interessanterweise als einen Hauptmetaboliten von β -Asaron (Abb. 2). Somit scheint der „klassische Weg“ der Aktivierung für β -Asaron denkbar. Bei Isoeugenol und α -Asaron konnten wir in unseren In-vitro-Versuchen hingegen keinen 1'-OH-Metaboliten identifizieren, was die Vermutung nahelegt, dass der Kanzerogenität dieser beiden Verbindungen ein anderer Wirkmechanismus zu Grunde liegt.

Risikobewertung und Regulierung

Ein Ansatz beim Risikomanagement gentoxischer kanzerogener LM-Inhaltstoffe ist die Berechnung des „Margin of exposure“ (MOE). Dieser setzt die Dosis, die (im Tierversuch) gerade einen Anstieg der Tumorzinzidenz hervorruft (z. B. T_{25} oder $BMDL_{10}$), mit der oralen Aufnahme eines Stoffes in einer Bevölkerungsgruppe ins Verhältnis, wobei mehrere Unsicherheitsfaktoren eingerechnet werden. Somit erhält man zwar keine quantitative Risikoabschätzung, kann aber ein Ranking verschiedener Substanzen ableiten. Die Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA) schätzt die Priorität, regulierend einzugreifen zu müssen, dann relativ gering ein, wenn der MOE über 10.000 liegt. Ist er niedriger als 10.000, so scheint der Handlungsbedarf höher und Minimierungsmaßnahmen dringlicher. Schätzungen zur täglichen Aufnahme von ME liegen zwischen <10 – $220 \mu\text{g}/\text{kg}$ Körpergewicht. Legt man nun den $BMDL_{10}$ zu

Gehalte in Lebensmitteln:

Die natürlichen Gehalte an PP in Pflanzen sind von vielen Faktoren abhängig und schwanken über Größenordnungen. Der ME-Gehalt in Basilikum schwankt nicht nur innerhalb verschiedener Varietäten stark, sondern auch bei derselben Sorte. In *Ocimum basilicum* L. variiert der Gehalt an ME im ätherischen Öl zwischen 0 und 100% je nach Alter der Pflanze, Position der Blätter, Wachstumsbedingungen, Standort und natürlich dem Chemotyp [3]. In einer aktuellen Arbeit wurden maximale ME-Gehalte von bis zu $9,3 \text{ g}/\text{kg}$ (Piment), $4,7 \text{ g}/\text{kg}$ (Muskatnuss) und $1,2 \text{ g}/\text{kg}$ (Basilikum) gefunden. Basilikumreiches Pesto enthält im Gegensatz dazu mit bis zu $5 \text{ mg}/\text{kg}$ nur relativ wenig ME, wird aber in deutlich größeren Mengen verzehrt als die oben genannten Gewürze [4].



Tab. 1 Auswahl einiger natürlicher Phenylpropene: Struktur, Vorkommen und Angaben zur Kanzerogenität.

Allyl-Seitenkette				Propenyl-Seitenkette			
Name	Struktur	Vorkommen	Kanzerogenität im Tierversuch	Name	Struktur	Vorkommen	Kanzerogenität im Tierversuch
Methyleugenol		Basilikum, Estragon, Fenchel, Piment, Muskatnuss, geringe Konzentrationen in Bananen, Orangen, Grapefruit.	positiv [8]	(E/Z)-Methylisoeugenol		<i>Asarum arifolium</i> , <i>Acorus gramineus</i> , <i>Cymbopogon javanensis</i>	negativ [9]
Safrol		Sassafrasbaum, Kampferbaum, Lorbeere	positiv [8]	(E/Z)-Isosafrol		Ylang-Ylang-Öl (Blüten des Kanangabau-mes), <i>Illicium religiosum</i> , <i>Cladosporium sphaerospermum</i>	negativ [10]
Estragol		Estragon, Kerbel, Sternanis	positiv [8]	(E/Z)-Anethol		Anis, Fenchel, Sternanis	negativ [10]
γ-Asaron		schwarzer Pfeffer, Kalmus	nicht untersucht	α-Asaron		Kalmus (europäische Varietät), Haselwurzgewächse	positiv [10]
Apiol		Petersilie, Sellerie	negativ [8]	β-Asaron		Kalmus (indische Varietät), Haselwurzgewächse	positiv [10]
Eugenol		Gewürznelke, Piment, Bayöl, Zimt	negativ [8]	(E/Z)-Isoeugenol (7:1)		Ylang-Ylang-Öl, Muskatnuss, Gewürznelke	positiv [11]



Laborbau | Systeme

HEMLING.de

Innovativ, variabel, modular

Kompromisslos in Qualität, Effizienz und Individualität:
 Wo immer im Laborbereich intelligente,
 variable und ergonomische Detaillösungen gefragt sind,
 finden Sie uns.

In Unternehmen und Kliniken, an Schulen und Universitäten,
 in Einrichtungen jeder Größenordnung auch über die Grenzen
 Deutschlands hinaus machen unsere hochwertigen,
 innovativen Energieversorgungssysteme, Arbeitstische,
 Abzüge und Schranksysteme Laborarbeitsplätze zukunfts-
 fähiger und sicherer.



Laborbau Systeme Hemling GmbH & Co. KG | Siemensstraße 10 | D 48683 Ahaus
 Telefon: +49 2561/956860 | info@laborbau-systeme.de | www.laborbau-systeme.de

Grunde, ergibt dies einen MOE von 100 – 800 für die Bevölkerung der USA bzw. Werte um 3100 oder höher für Europäer [4]. Ein Grund hierfür kann sein, dass die Verwendung von reinem ME als Aromastoff in den USA erlaubt ist. In der EU hingegen ist der gezielte Zusatz von ME, Safrol, Estragol und β -Asaron zu Lebensmitteln verboten. Überdies sind für den natürlichen Gehalt dieser Substanzen Höchstmengen definiert. Verordnung (EG) Nr. 1334/2008 reguliert die Gehalte z.B. für alkoholische Getränke und andere Produktgruppen. Maximale Gehalte von bis zu 60 mg/kg sind als natürliche Höchstmenge erlaubt.

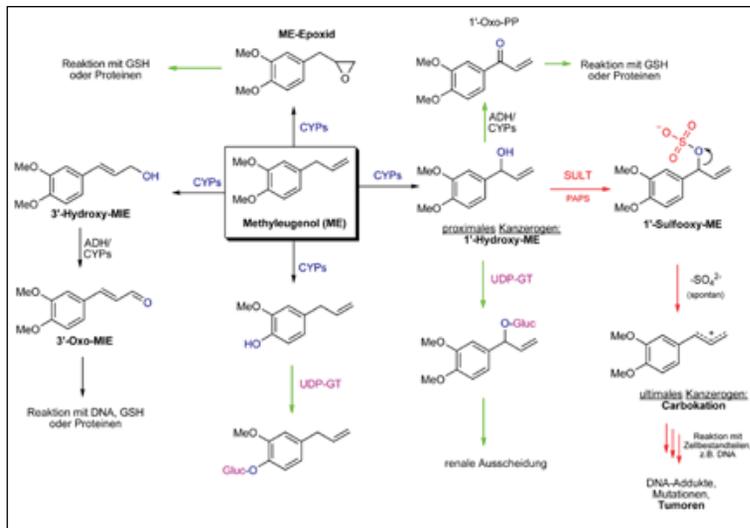


Abb. 1 Metabolisierungswege von Methyl Eugenol. Rote Reaktionspfeile markieren Aktivierung (Giftung), grüne Detoxifizierungsreaktionen, schwarze können potenziell zu beidem führen. CYP: Cytochrom P450; SULT: Sulfo-transferase; UDP-GT: UDP-Glucuronosyltransferase; ADH: Alkoholdehydrogenase

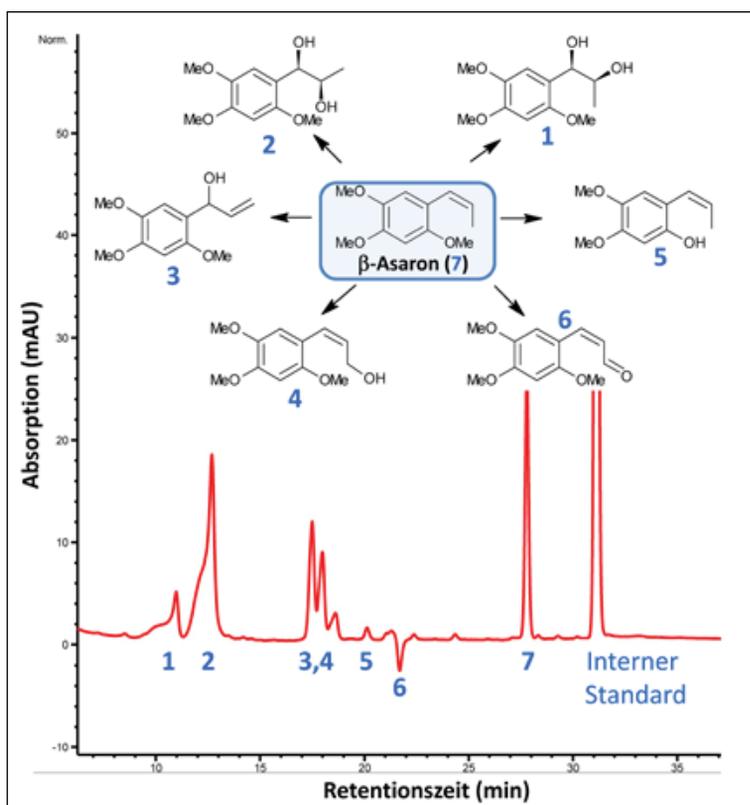


Abb. 2 HPLC-Chromatogramm des Inkubationsüberstandes von β -Asaron ($c = 500 \mu\text{M}$, 60 min) mit humanen Lebermikrosomen (unten) und identifizierte Metaboliten (oben)

food chemistry



Alexander Cartus, geb. 1981, studierte Chemie an der TU Kaiserslautern. Seit 2010 ist er wissenschaftlicher Mitarbeiter in der Fachrichtung Lebensmittelchemie und Toxikologie und beschäftigt sich im Rahmen seiner Promotion mit dem Metabolismus und den gentoxischen Eigenschaften verschiedener natürlich vorkommender Phenylpropene.



Dieter Schrenk, geb. 1953, studierte Lebensmitteltechnologie an der Universität Stuttgart-Hohenheim (Promotion 1983) und Medizin in Göttingen, Heidelberg und Tübingen (Promotion 1985). Danach war er Postdoktorand u. a. an der Universität Würzburg und Gastwissenschaftler am National Cancer Institute (Bethesda, USA). 1995 habilitierte er im Fach Pharmakologie und Toxikologie. Zwischen 1996 und 2004 war er Professor für Lebensmittelchemie und Umwelttoxikologie an der TU Kaiserslautern; 2004 übernahm er ebenda die Leitung des Lehrstuhls für Lebensmittelchemie und Toxikologie.

Synergismus und Antagonismus

Das klassische „Risk assessment“ beschränkt sich auf die Bewertung von Einzelstoffen. Um eine aussagekräftige Risikoanalyse in Bezug auf ein LM durchzuführen, muss natürlich die Gesamtheit der toxisch bedenklichen PP berücksichtigt werden, denn meist kommen mehrere PP, die über den gleichen Wirkmechanismus aktiviert werden, in PP-reichen LM vergesellschaftet vor. Es fehlen derzeit Untersuchungen, in denen der Gesamtgehalt der „PP of concern“ verschiedener LM ermittelt wird. Andererseits ist auch in Betracht zu ziehen, dass es sich bei LM oft um sehr komplexe Matrices handelt, die eine Fülle weiterer, evtl. (krebs-) protektiver Inhaltsstoffe aufweisen. So können manche PP-reiche, methanolische Pflanzenextrakte potent die Sulfo-transferase-Aktivität hemmen, was im Weiteren die Bildung von Methyleugenol- und Estragol-DNA-Addukten in der Zellkultur verringert [5]. Im Falle von Basilikumextrakt sind diese Effekte stark ausgeprägt und werden hauptsächlich auf Flavonoide

zurückgeführt. Fraglich bleibt, wie humanrelevant diese Effekte sind, da Flavonoide deutlich schlechter bioverfügbar sind als PP.

Mensch oder Maus?

Natürlich werfen solche Ergebnisse aus Nagetierstudien immer wieder eine der zentralen Fragen der experimentellen Toxikologie auf: Inwieweit sind die in Tierversuchen gefundenen Effekte hochdosierter Reinstoffen auf den Menschen übertragbar?

So viel ist sicher: Der Mensch hat die notwendige Enzymausstattung für die Bioaktivierung der PP. Mit experimentellen In-vitro-Daten und aufwändigen Simulationsmodellen konnten toxikokinetische und -dynamische Parameter vieler PP berechnet und extrapoliert werden. Ein Resultat ist, dass die Metabolisierungswege der PP zwar quantitativ bei Ratte und Mensch variieren, aber die Unterschiede bei der ultimalen Gesamtbioaktivierung (z. B. von ME) zwischen Ratte und Mensch vernachlässigbar sind [6].

Neue Brisanz erfährt das Forschungsgebiet durch eine jüngst von Wissenschaft-

lern am Deutschen Institut für Ernährungsforschung veröffentlichte Arbeit. Sie untersuchten 30 humane Leberbiopsieproben und wiesen in 29 Methyleugenol-DNA-Addukte nach. Der Median bzw. Maximalwert der detektierten Addukte lag bei 13 bzw. 37 pro 10^8 Nucleoside [7]. Diese Addukt-Level liegen nahe an denen, die man für bekannte Hepatokanzerogene im Bereich des TD_{50} (die Dosis, bei welcher die Lebertumorinzidenz in einer Langzeit-Nagetierstudie 50% beträgt) beobachtet. Somit ist die schlichte Anzahl der gefundenen ME-Addukte erstaunlich hoch. Ob und in welchem Ausmaß DNA-Reparatur eine Rolle spielt, ist derzeit noch nicht untersucht.

Fazit

PP sind eine überaus interessante Verbindungsklasse. Geringste Unterschiede der Strukturen führen zu gänzlich anderen Wirkungen, die nicht allein durch Kenntnis der Struktur vorherzusagen sind.

Es besteht zwar kein Grund zur Panik, aber es ist gesichert, dass viele PP gentoxische Nager-Kanzerogene sind, für die zurzeit kein sicherer Schwellen- oder Grenzwert abgeleitet werden kann. Auch wenn die Dosen aus Tierversuchen bei einer ausgewogenen Ernährung nicht erreicht werden und bislang kein direkter klinischer oder epidemiologischer Zusammenhang zwischen Lebertumoren und der Aufnahme von PP beim Menschen bestätigt wurde, kann die Empfehlung aufgrund der unzureichenden Datenlage derzeit nur lauten, die Gehalte an PP in Nahrungsmitteln besser zu untersuchen, zu kontrollieren und nach Möglichkeit, z. B. durch gezielte Züchtungen in pflanzlichen LM, zu vermindern.

→ cartus@rhrk.uni-kl.de

→ schrenk@rhrk.uni-kl.de

Literatur

- [1] Grob, I.A. et al. (2012) *Food Funct.* 3, 428-436
- [2] Cartus, A.T. et al. (2012) *Toxicol. Sci.* 129, 21-34
- [3] Miele, M. et al. (2001) *J. Agric. Food Chem.* 49, 517-521
- [4] Lachenmeier, D.W. et al. (2013) *Eur. Food Res. Technol.* 236, 267-275
- [5] Albusainy, W. et al. (2012) *Toxicol. Sci.* 129, 174-87
- [6] Al-Subeibi, A.A. et al. (2012) *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 260, 271-284
- [7] Herrmann, K. et al. (2013) *Carcinogenesis* 2013, doi: 10.1093/carcin/bgt013
- [8] Miller, E.C. et al. (1983) *Cancer Res.* 43, 1124-1134
- [9] Purchase, R. et al. (1992) *Food Chem Toxicol.* 30, 475-81
- [10] Wiseman, R.W. (1987) *Cancer Res.* 47, 2275-2283
- [11] *Natl. Toxicol. Program Tech. Rep. Ser.* (2010) 551, 1-178.

Fotos: © istockphoto.com | NI QIN, © womue - Fotolia.com
panthermedia.net | Christian Jung

SOS- Basilikum-Pesto



Für 1 l

- 400 g Basilikum
- 5–6 Tl Salz
- 80 g geriebener Parmesan
- 80 g Pinienkerne
- 400 ml Olivenöl + etwas zum Auffüllen

Zubereitung

- 4 Twist-off-Gläser (à 250 ml Inhalt) sterilisieren. Vom Basilikum die Blätter abzupfen und grob schneiden. Basilikum, Salz, Parmesan, Pinienkerne und 400 ml Olivenöl in ein hohes Gefäß geben und mit dem Schneidstab fein pürieren.
- Das Pesto bis 2 cm unter den Rand in die Gläser füllen und glatt streichen. Dabei darauf achten, dass möglichst keine Lufteinschlüsse entstehen und der Glasrand sauber bleibt.
- Das Pesto 1–2 cm hoch mit Olivenöl bedecken. Kühl und dunkel gelagert hält sich das Pesto unangebrochen 10–12 Monate. Nach dem Öffnen im Kühlschrank lagern, immer wieder mit Olivenöl bedecken und zügig verbrauchen.

Quelle: <http://www.essen-und-trinken.de>

Serviervorschlag

Mit frischen Nudeln und Tomaten servieren.
Für ein frische Erlebnis auch in den warmen Sommertagen.

Mit dem neuen Multi-Touch-Regler **Pilot ONE®** erledigen Sie Ihre Temperieraufgaben einfacher und schneller als jemals zuvor. Jetzt serienmäßig bei allen Temperiersystemen, Umwälzkühlern und Thermostaten – ohne Aufpreis!



- 5.7" TFT-Touchscreen
- USB & LAN Anschlüsse
- Einfache Bedienung
- Plug & Play-Technik
- Favoritenmenü



Mehr Informationen unter www.huber-online.com
oder gratis den neuen Katalog 2013/2014 anfordern.

huber
high precision thermoregulation

Beratung: +49 (0)781 9603-123