

Besteht ein gesundheitliches Risiko durch Glycidamid in Lebensmitteln?

Stellungnahme Nr. 005/2009 des BfR vom 23. Oktober 2008

Im Sommer 2008 wiesen Wissenschaftler der Technischen Universität München Glycidamid neben Acrylamid in Kartoffelchips nach. Bei den Versuchen zeigte sich, dass unter Einwirkung von großer Hitze auf Lebensmittel wie Kartoffeln oder Getreide nicht nur Acrylamid gebildet wird, sondern in sehr geringen Mengen auch Glycidamid aus Acrylamid entsteht.

Glycidamid ist seit langem als Stoffwechselprodukt von Acrylamid bekannt. Acrylamid sorgt seit seiner Entdeckung in Lebensmitteln im Jahr 2002 immer wieder für Aufsehen. Beim Backen, Braten und Rösten ist Acrylamid ein Produkt der so genannten Bräunungsreaktion. Bislang war nicht bekannt, dass Glycidamid aus Acrylamid beim Erhitzen von Lebensmitteln entstehen kann. Es gilt als die verantwortliche Substanz für die toxischen und krebserregenden Wirkungen von Acrylamid. Nach dem Verzehr von Acrylamid-haltigen Lebensmitteln wird ein Teil des aufgenommenen Acrylamids im Organismus in Glycidamid umgewandelt. Glycidamid kann das Erbgut von Körperzellen und Keimzellen verändern, wirkt also mutagen. Untersuchungen mit der Reinsubstanz Glycidamid haben gezeigt, dass die Substanz vollständig vom Körper aufgenommen wird.

Vor diesem Hintergrund hat das BfR bewertet, ob von Glycidamid, welches in Lebensmitteln enthalten ist, ein gesundheitliches Risiko ausgehen kann. Beim Erhitzen von Kartoffelprodukten entstehen vergleichsweise geringe Glycidamidmengen. Größere Mengen Glycidamid entstehen im Organismus nach dem Verzehr von Lebensmitteln, die viel Acrylamid enthalten durch körpereigene Umwandlung. Somit stellen Glycidamidmengen, wie sie durch die Münchner Forscher in erhitzten Lebensmitteln nachgewiesen wurden, ein vergleichsweise geringes Risiko dar. Aus Sicht des BfR ist es erforderlich, abzuklären, ob das beim Erhitzen von Nahrungsmitteln gebildete Glycidamid stabil ist. Da die Belastung des Menschen mit Glycidamid im Wesentlichen auf die körpereigene Umwandlung von Acrylamid zu Glycidamid zurückzuführen ist, ist es aus Sicht des BfR erforderlich, den Acrylamidgehalt in Lebensmitteln weiter zu minimieren. Die Industrie sollte bereits ergriffene Minimierungsmaßnahmen weiter verfolgen. Gleichzeitig sollte aber auch das Bewusstsein der Verbraucher für den Umgang mit Lebensmitteln beim Backen, Braten und Frittieren geschärft werden. Denn Acrylamid entsteht in jedem Haushalt, beispielsweise beim Backen von Kuchen und beim Frittieren von Kartoffeln. Für Toastbrot, Pommes frites, Bratkartoffeln und selbst zubereitetes Gebäck gilt nach wie vor die einfache Regel „Vergolden statt Verkohlen“.

1 Gegenstand der Bewertung

In einer 2008 erschienenen Studie von Granvogl et al. (2008) wurde zum ersten Mal über das Vorkommen von Glycidamid in verschiedenen Kartoffelprodukten in Mengen von 0,3-1,5 µg/kg berichtet. Das Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) hat das gesundheitliche Risiko von Glycidamid (GA) (CAS-Nr.: 5694-00-8) in Lebensmitteln bewertet.

2 Ergebnis

Nach derzeitigen Kenntnissen kann Glycidamid in sehr geringen Mengen als hitzebedingte Kontaminante aus Acrylamid durch Reaktion mit Hydroperoxiden von ungesättigten Fettsäuren in Lebensmitteln entstehen. Wesentlich größere Mengen (etwa 100-fach) an Glycidamid werden jedoch im Organismus durch Metabolisierung gebildet, wenn Acrylamid mit Lebensmitteln aufgenommen wird. Glycidamid ist mutagen und der mutmaßlich ultimale kanzerogene Metabolit von Acrylamid. Seine mutagene Wirkpotenz ist schwächer ausgeprägt als z.B.

die von bestimmten N-Nitrosoverbindungen. Eine kanzerogene Wirkung ist nicht auszuschließen und wird derzeit untersucht.

Die in Kartoffelprodukten nachgewiesenen niedrigen Glycidamid-Konzentrationen stellen verglichen mit der Menge an Glycidamid, die nach Aufnahme Acrylamid-haltiger Nahrung endogen gebildet werden kann, ein vergleichsweise geringes Risiko dar. Weiter ist bislang unklar, ob das im Lebensmittel gebildete Glycidamid lange genug stabil ist, um überhaupt mit der Nahrung in den Körper aufgenommen zu werden.

Das BfR hat Fragen und Antworten zu Glycidamid erarbeitet, die unter <http://www.bfr.bund.de/cd/28580> veröffentlicht sind.

3 Begründung

3.1 Risikobewertung

3.1.1 Entstehung von Glycidamid in Lebensmitteln

Der von Granvogl et al. (2008) beschriebene Bildungsweg von Glycidamid durch Epoxidierung von Acrylamid ist plausibel. Zugrunde gelegt wird die „Prileschajew-Reaktion“, nach der ein Epoxid (Glycidamid) aus einem Alken (Acrylamid) und einer organischen Peroxycarbonsäure (aus ungesättigten Fettsäuren und Luftsauerstoff) gebildet wird. Dies wurde in Modellversuchen der Autoren bestätigt. Damit in Einklang stehen auch die Befunde der Autoren, dass beim Frittieren von Pommes frites bei Verwendung von Sonnenblumenöl (reich an ungesättigten Fettsäuren) mehr Glycidamid entsteht als bei Verwendung von Kokosfett (enthält vorwiegend gesättigte Fettsäuren).

Die nachgewiesenen Mengen an Glycidamid variierten zwischen 0,3 und 1,5 µg/kg Produkt in Abhängigkeit von den Prozessbedingungen.

Der analytische Nachweis von Glycidamid und Acrylamid erfolgte mittels Isotopenverdünnungsanalyse, welche kein neues Verfahren darstellt. Diese Technik zur Erfassung von Acrylamid in Lebensmitteln (Klaffke et al., 2005) wurde u. a. bei der Bestimmung des Metaboliten Glycidamid bei toxikokinetischen Untersuchungen zu Acrylamid angewendet (Doerge et al., 2005 a,b; Twaddle et al., 2004). Auch das BfR hat zur metabolischen Bildung und zum Nachweis von Glycidamid bereits einen Beitrag veröffentlicht (Settels et al., 2008). Die Isotopenverdünnungsmethode wurde aber erstmalig von Granvogl et al. für die Analyse von Lebensmitteln (Kartoffelprodukten) beschrieben. Die Methode erlaubt eine simultane Bestimmung von Glycidamid und Acrylamid.

In den letzten Jahren wurden zahlreiche lebensmitteltechnologische Maßnahmen zur Reduzierung der Entstehung von Acrylamid bei der Herstellung von Lebensmitteln entwickelt. Vor dem Hintergrund der neuen Erkenntnisse ist zukünftig zu prüfen, welchen Einfluss diese Maßnahmen auf die Bildung von Glycidamid ausüben. Mit Blick z.B. auf die Verwendung unterschiedlicher Fette und Öle und deren Einfluss auf die Acrylamidbildung hat sich kein deutlicher Trend ausmachen lassen, anders als offensichtlich bei der Glycidamidentstehung. Für weitere Überlegungen bedarf es zusätzlicher Analysen.

3.1.2 Zur Toxikologie von Glycidamid

3.1.2.1 Toxikokinetik

In der Arbeitsgruppe um Doerge (Doerge et al., 2005 a, b, c; Tareke et al., 2006) wurde das toxikokinetische Verhalten von Glycidamid nach intravenöser und oraler Verabreichung (gavage) an Mäusen und Ratten untersucht. Eine Studie zur Toxikokinetik von Glycidamid nach Aufnahme über die tierexperimentelle Nahrung konnte nicht durchgeführt werden, da Glycidamid als reaktives Epoxid nach Beimischung unter die Nahrung nicht stabil blieb (Doerge et al., 2005 a, b: „By contrast, Glycidamid was highly unstable in the diet precluding this route of administration“). Falls sich dieser Befund in Untersuchungen mit Lebensmitteln bestätigen ließe, wäre der Nachweis von Glycidamid im Lebensmittel ohne größere Bedeutung.

Glycidamid wurde männlichen und weiblichen Ratten und Mäusen intravenös bzw. oral (gavage) verabreicht. Durch Bestimmung von Glycidamid im Serum konnte anhand der Plasma AUC (Area under the curve)-Werte gezeigt werden, dass der Stoff rasch absorbiert wird und zu 100 % systemisch bioverfügbar ist. Die Verteilung wurde in verschiedenen Organen (z.B. Leber, Testes, Brustgewebe, Gehirn, Muskeln) bei männlichen und weiblichen Tieren nach oraler Verabreichung (gavage) untersucht. Glycidamid wurde in allen Geweben außer in der Leber und in den Testes nachgewiesen. Zum Teil liegen in den Organen Konzentrationen vor, die den Serumkonzentrationen vergleichbar sind. Die Nicht-Detektion von Glycidamid in der Leber wird durch eine effiziente hepatische Clearance (z.B. durch Glutathion-Konjugation) erklärt. Eine Biotransformation erfolgt über diese Reaktion mit Glutathion, wobei dann die verschiedenen Mercaptursäuren entstehen. Zusätzlich findet eine Metabolisierung über die Epoxidhydrolase statt.

Nach intravenöser bzw. oraler (gavage) Verabreichung von Glycidamid an Ratten und Mäusen waren die Glycidamid-Valin Addukte im Hämoglobin in Relation zu Kontrolltieren, die mit äquimolaren Mengen an Acrylamid behandelt worden waren, erhöht. Bei Mäusen war die Differenz zwischen Glycidamid-Valin-Addukten nach Acrylamid-Verabreichung und Glycidamid-Verabreichung weniger stark ausgeprägt als bei Ratten (Tareke et al., 2006).

3.1.2.2 Gentoxizität von Glycidamid *in vitro* und *in vivo*

Zahlreiche Untersuchungen belegen eine Gentoxizität von Glycidamid (z.B. Besaratinia et al., 2004; Manjanatha et al., 2006; Martins et al., 2007; Mei et al., 2008). Auf folgende Untersuchungen soll zusätzlich hingewiesen werden.

In vitro-Untersuchungen:

Glycidamid war mutagen in den Teststämmen *Salmonella typhimurium* TA100 und TA1535 mit und ohne metabolisches System (Hashimoto und Tanii, 1985). Glycidamid induzierte ab Konzentrationen von 800 µM ohne metabolische Aktivierung Mutationen am *hprt*-Locus in V79-Zellen und im Konzentrationsbereich von 300 bis 3000 µM gentoxische Effekte (Comet Assay) in humanen Lymphozyten (Baum et al., 2005). DNA-Schäden in V79-Zellen (Comet Assay) waren ab 300 µM und erst nach 4 Stunden detektierbar. Im Vergleich dazu konnten DNA-Läsionen durch 3-*N*-Nitroso-oxazolidin-2-on (NOZ-2) bereits nach 15 Minuten und bei geringeren Konzentrationen (3 µM) nachgewiesen werden (Baum et al., 2008). Dass Mutationen am *hprt*-Locus von V79-Zellen nur bei höheren Glycidamid-Konzentrationen detektierbar waren, ist möglicherweise darauf zurückzuführen, dass die ausgelösten DNA-Schäden effektiv repariert werden. Der HPRT-Test schließt eine 5-tägige sogenannte Expressionsphase ein, in der auch eine DNA-Reparatur stattfinden kann. Bei NOZ-2 war Mutagenität am *hprt*-Locus bereits bei den gleichen Konzentrationen nachweisbar, bei denen auch DNA-Schäden im Comet Assay gefunden wurden.

Im Vergleich zu anderen bekannten Mutagenen (Polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAKs); N-Nitrosoverbindungen) stellt sich Glycidamid als Substanz mit einer schwächeren gentoxischen Potenz dar (gentoxische Effekte erst bei höherer Konzentration) (Thielen et al., 2006).

In vivo-Untersuchungen:

Sechs Stunden nach einer einmaligen intraperitonealen (i.p.) Injektion von 50 mg Glycidamid/kg KG wurden in der Leber, der Lunge und den Nieren von adulten Mäusen und im gesamten Körper neonataler Mäuse drei DNA-Addukte identifiziert (N7-GA-Gua, N3-GA-Ade und N1-GA-Ade) (da Costa et al., 2003). Die Addukt-Niveaus waren nach Applikation von Acrylamid in adulten Mäusen geringer als nach der Applikation von Glycidamid.

Glycidamid induzierte einen schwachen, dosisabhängigen Anstieg der Mikrokernfrequenzen in peripheren Erythrocyten der Maus nach einmaligen i.p. Applikationen von 0,18-0,7 mmol/kg KG (Paulsson et al., 2003). Auch in Knochenmarkszellen der Maus löste Glycidamid eine schwache, jedoch statistisch signifikante, Erhöhung der Mikrokernfrequenz nach jeweils einmaligen i.p. Applikationen von 0,7-0,9 mmol/kg KG aus (Paulsson et al., 2003).

Keimzellmutagenitäts-Untersuchungen:

In vivo Applikationen von Glycidamid wirkten mutagen auf männliche Keimzellen der Maus (Favor und Shelby 2005). Auch Acrylamid ist in der Lage, diesen Effekt auszulösen. Beim Vergleich von Studien zur Keimzellmutagenität von Acrylamid und Glycidamid, die allerdings in unterschiedlichen Laboratorien durchgeführt wurden, stellt sich Glycidamid als potenteres Mutagen dar. Eine verlässlichere Aussage zum Vergleich der mutagenen Potenz wäre erst auf der Basis einer Studie, in der Acrylamid und Glycidamid parallel untersucht werden, möglich.

Glycidamid induzierte eine Erhöhung der außerplanmäßigen DNA-Synthese (UDS) in Maus Spermatisden nach i.p. Applikation von 150 mg/kg KG. Dominant-Letal-Mutationen wurden in männlichen Mäusen nach einer i.p. Dosis von 125 mg/kg KG und vererbare Translokationen in Mäusespermatisden nach einer i.p. Applikation von 100 mg/kg KG ausgelöst (Generoso et al., 1996).

3.1.2.3. Kanzerogenität von Glycidamid

Eine Kanzerogenität von Glycidamid ist nicht auszuschließen und sogar wahrscheinlich. Nach Informationen des BfR werden derzeit Langzeit-Kanzerogenitätsstudien mit Glycidamid durchgeführt. Hierbei wird die Substanz Ratten und Mäusen oral im Wasser und nicht im Futter appliziert. Mit ersten Publikationen ist nicht vor Mitte 2009 zu rechnen (NTP/NCTR-Studien, US-FDA).

3.2 Schlussfolgerungen und Empfehlungen

Glycidamid ist gentoxisch *in vitro* und *in vivo* in somatischen Zellen und ist in der Lage, vererbare Schäden an männlichen Keimzellen der Maus auszulösen. Seine gentoxische Potenz ist jedoch schwächer ausgeprägt als die von anderen bekannten Mutagenen, z.B. N-Nitrosoverbindungen. Da eine kanzerogene Wirkung nicht auszuschließen ist, wird der Stoff derzeit entsprechend untersucht.

Aufgrund bisher durchgeführter Tierstudien mit Glycidamid als Reinsubstanz (d.h. nicht in Lebensmitteln als Kontaminante vorliegend) ist anzunehmen, dass in Lebensmitteln vorhandenes Glycidamid vollständig absorbiert wird und daher zu 100 % systemisch bioverfügbar ist. Bisher gibt es keine Anhaltspunkte dafür, dass beim Menschen von einer geringeren Bioverfügbarkeit von Glycidamid als Reinsubstanz auszugehen ist. Glycidamid ist aufgrund seines Verteilungsvolumens in der Lage, sich rasch in alle Organe zu verteilen. Sofern beim Erhitzen von Lebensmitteln gebildetes Glycidamid ausreichend stabil ist, um über die Nahrung aufgenommen werden zu können, dürfte es dieselben Stoffwechselwege beschreiten wie das endogen über einen CYP2E1-abhängigen Metabolismus aus Acrylamid gebildete Glycidamid. Der Stoff bildet u. a. mit DNA und Hämoglobin Addukte.

Aufgrund der Untersuchungen von Doerge et al. (2005 a, b) besteht die Möglichkeit, dass Glycidamid in Nahrungsmitteln nicht die für eine Bioverfügbarkeit erforderliche Stabilität aufweist. Es sollte deshalb geklärt werden, ob und wie lange das in erhitzten Nahrungsmitteln gebildete Glycidamid überhaupt in Nahrungsmitteln chemisch stabil ist.

Verglichen mit der endogenen Bildung von Glycidamid aus Acrylamid stellen die in den Kartoffelprodukten nachgewiesenen geringen Mengen an Glycidamid – wenn überhaupt (d.h. wenn exogen gebildetes Glycidamid in Nahrungsmitteln ausreichend stabil ist) – ein geringes Risiko dar.

4 Literatur

Baum, M., Fauth, E., Fritzen, S., Herrmann, A., Mertes, P., Merz, K., Rudolphi, M., Zankl, H., Eisenbrand, G. (2005) Acrylamide and glycidamide: genotoxic effects in V79-cells and human blood. *Mutation Res.* 580, 61-69.

Baum, M., Loeppky, R. N., Thielen, S., Eisenbrand, G. (2008) Genotoxicity of glycidamide in comparison to 3-N-Nitroso-oxazolidin-2-one. *J. Agric. Food. Chem.* 56, 5989-5993.

Besaratinia, A., Pfeifer, G.P. (2004) Genotoxicity of acrylamide and glycidamide. *J. Natl. Cancer Inst.* 96, 1023-1029.

da Costa, G. G., Churchwell, M. I., Hamilton, L. P., von Tungeln, L. S., Beland, F. A., Marques, M. M., Doerge, D. R. (2003) DNA adduct formation from acrylamide via conversion to glycidamide in adult and neonatal mice. *Chem. Res. Toxicol.* 16, 1328-1337.

Doerge, D.R., Young, J.F., McDaniel, L.P., Twaddle, N.C., Churchwell, M.I. (2005a): Toxicokinetics of acrylamide and glycidamide in Fischer 344 rats. *Tox. Appl. Chem* 208, 199 – 209.

Doerge, D.R., Young, J.F., McDaniel, L.P., Twaddle, N.C., Churchwell, M.I. (2005b): Toxicokinetics of acrylamide and glycidamide in B6C3F1 mice. *Tox. Appl. Chem* 202, 258 – 267.

Doerge, D.R., Gamboa da Costa, G., McDaniel, L.P., Churchwell, M.I., Twaddle, N.C., Beland, F.A. (2005c): DNA-Adducts derived from administration of acrylamide and glycidamide to mice and rats. *Mutation Reserach* 580, 131-141.

Favor J., Shelby, M. D. (2005) transmitted mutational events induced in mouse germ cells following acrylamide or glycidamide exposure. *Mutation Res.* 580, 21-30.

Generoso, W. M., Sega, G. A., Lockhart, A. M., Hughes, L. A., Cain, K. T., Cachiero, N. L. A., Shelby, M. D. (1996) Dominant lethal and heritable translocation tests with chlorambucil and melphalan in male mice. *Mutation Res.* 345, 167-180.

Granvogel, M., Koehler P., Latzer L., Schieberle, P. (2008) Development of a Stable Isotope Dilution Assay for the Quantitation of Glycidamide and its Application to Foods and Model Systems. *J. Agric. Food Chem.* 56, 6087-6092.

Hashimoto, K., Tanii H. (1985) Mutagenicity of acrylamide and its analogues in *Salmonella typhimurium*. *Mutation Research* 158, 129-133.

Klaffke, H., Fauhl, C., Mathar, W., Palavinskas, R., Wittkowski, R., Wenzl, T., Anklam E. (2005): Results from two interlaboratory comparison tests organized in Germany an the EU level for analysis of acrylamide in food. *J AOAC Int.* 88, 292-298.

Manjanatha, M.G., Aidoo, A., Shelton, S.D., Bishop, M.E., McDaniel, L.P., Lyn-Cook, L.E., Doerge, D.R. (2006) Genotoxicity of acrylamide and its metabolite glycidamide administered in drinking water to male and female Big Blue mice. *Environ. Mol. Mutagen.* 47, 6-17.

Martins, C., Oliveira, N. G., Pingarilho, M., daCosta, G. G., Martins, V., Marques, M. M., Beland, F.A., Churchwell, M.I., Doerge, D. R., Rueff, J., Gaspar, J. F. (2007) Cytogenetic damage induced by acrylamide and glycidamide in mammalian cells: correlation with specific glycidamide-DNA adducts. *Toxicol. Sci.* 95 (2), 383-390.

Mei, N., Hu, J., Churchwell, M.I., Guo, L., Moore, M. M., Doerge, D. R., Chem, T. (2008) Genotoxic effects of acrylamide and glycidamide in mouse lymphoma cells. *Food Chem. Tox.* 46, 628-636.

Paulsson, B., Kotova, N., Grawé, J., Henderson, A., Granath, F., Golding, B., Törnqvist, M. (2003) Induction of micronuclei in mouse and rat by glycidamide, genotoxic metabolite of acrylamide. *Mutation Res.* 535, 15-24.

Settels, E., Bernauer, U., Palavinskas, R., Klaffke, H.S., Gundert-Remy, U., Appel, K.E. (2008) Human CYP2E1 mediates the formation of glycidamide from acrylamide, *Arch. Toxicol.* 82, 717-727.

Tareke, E., Twaddle, N.C., McDaniel, L.P., Churchwell, M.I., Young, J.F., Doerge, D.R. (2006): Relationships between biomarkers of exposure and toxicokinetics in Fischer 344 rats and B6C3F1 mice administered single doses of acrylamide and glycidamide and multiple doses of acrylamide. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 217, 63-75.

Thielen S., Baum, M., Hoffmann, M., Loepky, R. N., Eisenbrand, G. (2006) Genotoxicity of glycidamide in comparison to (+) – anti-benzo(a)pyrene-7,8-dihydrodiol-9,10-epoxide and acetoxo-N-nitroso-diethanolamine in human blood and in mammalian V79-cells. *Mol. Nutr. Food Res.* 50, 430-436.

Twaddle, N.C., Hamilton, L.P., Gamboa da Costa, G., Churchwell, M.I., Beland, F.A, Doerge, D.R. (2004): Determination of acrylamide and glycidamide serum toxicokinetics in B6C3F1 mice using LC-ES/MS/MS. *Cancer Letters* 207, 9-17.