

Pyrrrolizidinalkaloide in Kräutertees und Tees

Stellungnahme 018/2013 des BfR vom 5. Juli 2013

Pyrrrolizidinalkaloide sind sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe, die von einer Vielzahl weltweit vorkommender Pflanzenarten zum Schutz vor Fraßfeinden gebildet werden. Das Vorkommen von Pyrrrolizidinalkaloiden in Pflanzen variiert stark nach Pflanzenart und Teil der Pflanze und wird auch von weiteren Faktoren (z.B. Klima, Bodenbeschaffenheiten) beeinflusst. Aufgrund ihres gesundheitsschädigenden Potenzials sind insbesondere 1,2-ungesättigte Pyrrrolizidinalkaloide (PA) in Lebens- und Futtermitteln gesundheitlich bedenklich. In hoher Dosierung können sie zu akuten Leberschädigungen führen. Im Tierversuch haben sich bestimmte PA als genotoxische Kanzerogene erwiesen.

Das BfR führt derzeit ein Forschungsprojekt zum Thema „Bestimmung von Pyrrrolizidinalkaloiden in Lebens- und Futtermitteln“ durch. In dem Projekt wurden 221 verschiedene handelsübliche Kräutertee- und Teeproben sowie Teedrogen auf den Gehalt an PA untersucht. Folgende Teesorten wurden analysiert und in die Schätzung der Exposition einbezogen: Babyfencheltee, Fencheltee, Kamillentee, Kräutertee, Pfefferminztee, Brennnesseltee, Melissentee. Die Auswahl der Teesorten ist nicht repräsentativ. Die ersten erhobenen Daten des Forschungsprojekts sollten, zum Beispiel im Rahmen des Lebensmittel-Monitorings, verifiziert werden.

Als erste Ergebnisse der nicht repräsentativen Untersuchungen im Rahmen des Forschungsprojektes wurden PA-Summengehalte in den untersuchten Kräutertee- und Teeproben von 0 bis 3,4 Milligramm pro Kilogramm Trockenprodukt ermittelt. Für die Bewertung möglicher gesundheitlicher Risiken legte das BfR den MOE-Ansatz (Margin of Exposure) zugrunde, der international zur Abschätzung des potenziellen Risikos von genotoxisch und kanzerogen wirkenden Substanzen angewendet wird. Der MOE ergibt sich aus der menschlichen Exposition als ein Maß für den Umfang des Kontakts mit einem Stoff im Verhältnis zu der im Tierversuch festgestellten oder berechneten Effektdosis für eine gegebene Tumorzinzidenz. Es wird dabei angenommen, dass für genotoxische Kanzerogene ein MOE-Wert von 10000 oder höher gesundheitlich wenig bedenklich ist.

Trotz der in Einzelfällen unerwartet hohen PA-Gehalte in den gemessenen Proben ist eine akute Gesundheitsschädigung bei kurzfristiger Aufnahme (bis zu 14 Tagen) für Erwachsene und Kinder unwahrscheinlich. Eine Aussage über die Wahrscheinlichkeit einer gesundheitlichen Beeinträchtigung durch die regelmäßige Aufnahme von hoch belasteten Teeaufgüssen unterliegt einer großen Unsicherheit, da die Gehaltsdaten auch innerhalb der gleichen Teesorte teilweise große Schwankungen aufweisen. Bei Durchschnittsverzehrern (Erwachsene und Kinder) von Kräutertee und Tee, die keine bestimmte Sorte favorisieren, ist eine Beeinträchtigung der Gesundheit durch eine chronische Aufnahme von PA unwahrscheinlich, da die MOE-Werte oberhalb von 10000 liegen. Jedoch liegt, auf Basis der ersten erhobenen Daten des genannten Forschungsprojekts, bei Personen, die häufig große Mengen von Kräutertee und Tee verzehren, der MOE-Wert für die Aufnahme von PA deutlich unterhalb von 10000. Es besteht daher bei längerfristigem Verzehr von Produkten mit hohen Gehalten insbesondere bei Kindern, Schwangeren und Stillenden, ein Risiko einer gesundheitlichen Gefährdung.

Das potentielle Risiko für Verbraucherinnen und Verbraucher lässt sich verringern, wenn bei der Auswahl von Lebensmitteln die generelle Empfehlung zu Abwechslung und Vielfalt berücksichtigt wird. Auf diese Weise lassen sich einseitige Belastungen mit verschiedenen potentiell gesundheitsgefährdenden Stoffen, mit deren vereinzelt Vorkommen in geringen Mengen in Lebensmitteln gerechnet werden muss, vorbeugen. Insbesondere Eltern wird

empfohlen, ihren Kindern nicht ausschließlich Kräutertees und Tee anzubieten. Schwangere und Stillende sollten Kräutertees und Tee abwechselnd mit anderen Getränken konsumieren.

Wegen der genotoxischen und kanzerogenen Wirkung der PA sind, nach Auffassung des BfR, Anstrengungen notwendig, die PA-Gehalte in Kräutertees und Tees so weit wie möglich zu senken. Dies ist auch erforderlich, weil eine mögliche zusätzliche PA-Exposition durch andere Lebensmittel wie Honig hinzukommen kann. Das BfR empfiehlt Kontrollen der PA-Gehalte von Kräutertee- und Teechargen vor der Vermarktung und eine Erforschung der Ursache für hohe PA Gehalte in entsprechenden Produkten seitens der Wirtschaftsbeteiligten. Die Lebensmittelüberwachung sollte Kontrollen hinsichtlich potentieller PA-Gehalte von Kräutertee- und Teeproben durchführen.

 BfR-Risikoprofil: Vorkommen von Pyrrolizidinalkaloiden in Kräutertee- und Teesorten Stellungnahme (018/2013)	
A Betroffen sind	Allgemeinbevölkerung, Schwangere, Stillende, Kinder 
B Wahrscheinlichkeit einer gesundheitlichen Beeinträchtigung bei längerfristigem Verzehr von Produkten mit hohen Gehalten	Praktisch ausgeschlossen Unwahrscheinlich Möglich Wahrscheinlich Gesichert
C Schwere der gesundheitlichen Beeinträchtigung bei längerfristigem Verzehr von Produkten mit hohen Gehalten	Die Schwere der Beeinträchtigung kann variieren.
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 [1]	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 Nr. 018/2013 des BfR vom 5. Juli 2013).

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 E - Kontrollierbarkeit durch Verbraucher

[1] – Die Lebensmittelunternehmer sind aufgefordert, die Gehalte an Pyrrolizidinalkaloiden auf ein Minimum zu reduzieren (Dies können Verbraucher nicht kontrollieren). Eltern wird empfohlen, ihren Kindern nicht ausschließlich Kräutertees und Tee anzubieten, Schwangere und Stillende sollten Kräutertees und Tee abwechselnd mit anderen Getränken konsumieren (Vorsichtsmaßnahme).

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.

1 Gegenstand der Bewertung

Das Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) führt derzeit ein Forschungsprojekt zum Thema „Bestimmung von Pyrrolizidinalkaloiden in Lebens- und Futtermitteln“ durch. Im Rahmen dieses Projektes wurden 221 verschiedene handelsübliche Kräutertee- und Teeproben¹ sowie Teedrogen (184 Kräutertee- und Teeproben aus dem Lebensmitteleinzelhandel und 37 Teedrogen aus der Apotheke) auf den Gehalt an 1,2-ungesättigten Pyrrolizidinalkaloiden (PA)² untersucht. Die Proben wurden nicht durch eine repräsentative Stichprobenziehung entsprechender auf dem deutschen Markt befindlicher Produkte erhalten. Analytisch bestimmt wurden diejenigen PA, die als Standardsubstanzen kommerziell zur Verfügung stehen: Intermedin, Lycopsamin, Heliotrin, Heliotrin-N-Oxid, Echimidin, Lasiocarpin, Lasiocarpin-N-Oxid, Monocrotalin, Monocrotalin-N-Oxid, Retrorsin, Retrorsin-N-Oxid, Trichodesmin, Seneciphyllin, Seneciphyllin-N-Oxid, Senecionin, Senecionin-N-Oxid und Senkirkin. Für jede Probe wurde der Gesamt-PA-Gehalt als Summe aus den ermittelten Einzelgehalten berechnet.

Folgende Kräuterteerorten wurden in die Schätzung der Exposition einbezogen: Babyfencheltee, Fencheltee, Kamillentee, Kräutertee, Pfefferminztee, Brennnesseltee und Melissentee. Zusätzlich untersuchte Teerorten wurden wegen der insgesamt zu geringen Probenzahl nicht in die Schätzung der Exposition einbezogen: Grüner Tee, Roibuschtee, Schwarzer Tee.

2 Ergebnis

Nach ersten Ergebnissen nicht repräsentativer Untersuchungen im Rahmen des BfR-Forschungsprojektes wurden PA-Summengehalte in den untersuchten Kräutertee- und Teeproben von 0 – 3430 µg/kg Trockenprodukt ermittelt. Trotz der in Einzelfällen unerwartet hohen PA-Gehalte in den Kräutertee- und Teeproben wird auch bei hoher Dosierung eine akute Gesundheitsschädigung für unwahrscheinlich gehalten.

Im Hinblick auf die genotoxische und kanzerogene Wirkung der PA werden jedoch Anstrengungen für notwendig erachtet, die PA-Gehalte in Kräuterteerorten und Tees so weit wie möglich zu senken, um ein möglicherweise erhöhtes Krebsrisiko für Vielverzehrer und insbesondere für Kinder, bei denen eine höhere Empfindlichkeit für PA-bedingte Effekte in Betracht zu ziehen ist, zu minimieren. Diese Maßnahme wird u.a. auch im Hinblick darauf für erforderlich gehalten, dass eine mögliche zusätzliche PA-Exposition durch andere Lebensmittel, wie Honig, hinzukommen kann.

Bei der Bewertung der langfristigen Aufnahme legt das BfR weiterhin den MOE-Ansatz (Margin of Exposure)³, der zur Abschätzung des potenziellen Risikos von genotoxisch und kanzerogen wirkenden Substanzen international üblich ist, zugrunde. Dabei wird ausgehend von Tierstudien angenommen, dass für genotoxische Kanzerogene ein MOE-Wert von 10000 oder höher gesundheitlich wenig bedenklich ist. Nach den Ergebnissen des BfR-Forschungsprojektes würde bei Vielverzellern von bestimmten Kräutertee- und Teeaufgüs-

¹ Begriffe Kräutertee und Tee entsprechen den Definitionen gemäß Leitsätzen (1)

² PA bezeichnet im folgenden Pyrrolizidinalkaloide mit 1,2 ungesättigtem Grundkörper

³ Der MOE-Ansatz (Margin of Exposure) ist eine Methode, um das Risiko zu beschreiben, das von der Exposition gegenüber kanzerogenen und/oder genotoxischen Substanzen in Lebensmitteln ausgeht. Der MOE-Wert ist das Verhältnis der folgenden zwei Faktoren für eine bestimmte Population: der kleinsten Dosis, bei der eine geringfügige, aber messbare nachteilige Wirkung beobachtet wird, und der Höhe der Exposition gegenüber der betreffenden Substanz. Je höher der MOE-Wert, desto niedriger ist das potenzielle Gesundheitsrisiko für Verbraucher (2).

sen für Erwachsene und Kinder der MOE-Wert für die Aufnahme von PA deutlich unterhalb von 10000 liegen.

Das BfR schließt aus der bestehenden Datenlage, dass für diejenigen Erwachsenen und Kinder, die zu Vielverzellern von bestimmten Kräutertee-Aufgüssen zählen, insbesondere, wenn sie längerfristig hoch mit PA belastete Produkte konsumieren, möglicherweise erhöhte Risiken einer Gesundheitsschädigung durch Krebserkrankungen bestehen.

Das BfR empfiehlt erneut, die Gesamtexposition der Verbraucher mit genotoxischen und kanzerogen wirkenden PA aus verschiedenen Lebensmitteln so niedrig wie möglich zu halten.

Um die Vermarktung belasteter Chargen zu vermeiden, wird zum Schutz der Verbraucher empfohlen, dass Kräuterteechargen, die in den Verkehr gebracht werden sollen, vorher auf ihre PA-Gehalte geprüft werden.

Eine Ursachenforschung seitens der Wirtschaftsbeteiligten wird für dringend notwendig gehalten. Hierzu zählt u.a. die botanische Analyse des Pflanzenmaterials, dem das Vorkommen der in den Kräutertee- und Teeproben gefundenen PA zuzuordnen ist, sowie die Überprüfung der Guten-landwirtschaftlichen-Erntepraxis.

Generell sollte geprüft werden, welche Erfolge bezüglich der Senkung der PA-Gehalte durch Verbesserung von Anbau-, Ernte- und Reinigungsmethoden erzielt werden können.

Auch von der Lebensmittelüberwachung sollten nach Ansicht des BfR Kontrollen hinsichtlich der PA-Gehalte von Kräutertee- und Teeproben durchgeführt werden. Des Weiteren wird empfohlen, im Rahmen des Lebensmittel-Monitorings repräsentative Daten zu PA in Kräutertee- und Teeproben zu erheben.

3 Begründung

3.1 Risikobewertung

3.1.1 Agens

Pyrrrolizidinalkaloide sind sekundäre Pflanzenstoffe. Sie stellen unerwünschte Stoffe in Lebensmitteln und Futtermitteln dar (3-5). Es sind mehr als 500 verschiedene Pyrrrolizidinalkaloide und deren N-Oxide bekannt (6), mit deren Vorkommen infolge chemotaxonomischer Überlegungen in über 6000 Pflanzenspezies gerechnet wird (7). Vornehmlich gehören Pyrrrolizidinalkaloid-haltige Pflanzen den Familien der Korbblütler (*Asteraceae*), der Rauhbblatt- oder Borretschgewächse (*Boraginaceae*) und der Hülsenfrüchtler (*Fabaceae* oder *Leguminosae*) an (8).

Unter Pyrrrolizidinalkaloiden werden Ester aus einem 1-Hydroxymethylpyrrrolizidin (Necinbase) und aliphatischen Mono- oder Dicarbonsäuren (Necinsäuren) verstanden. In Abhängigkeit der Veresterung einer oder beider Hydroxylgruppen können Pyrrrolizidinalkaloide als Monoester oder Diester vorliegen. Erfolgt die Veresterung mit den beiden Carboxylgruppen einer Dicarbonsäure, entsteht ein zyklischer Diester. Je nach Struktur der Necinbase werden im Wesentlichen Pyrrrolizidinalkaloide vom Retronecin-, Heliotridin-, Otonecin- oder Platynecintyp unterschieden (Abbildung 1). Pyrrrolizidinalkaloide vom Retronecin- und Heliotridintyp sind Diastereomere an Position C-7 (9).

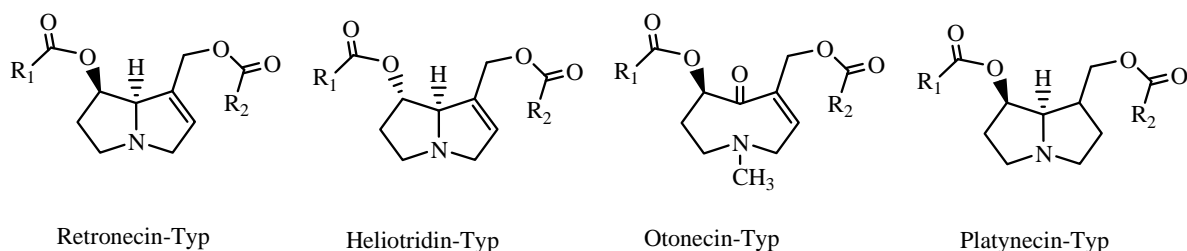


Abbildung 1: Strukturformeln wichtiger Necinbasen

3.1.2 Gefährdungspotenzial

Der im Folgenden zusammengefasste gegenwärtige Kenntnisstand zur Toxikologie bildet die Basis für die gesundheitliche Beurteilung von Pyrrolizidinalkaloiden in Lebensmitteln einschließlich Kräutertee und war auch die Grundlage der bisherigen Stellungnahmen des BfR zu dieser Thematik (10, 11).

3.1.2.1 Strukturchemische Grundlagen

Für die typischen toxischen Wirkungen der Pyrrolizidinalkaloide, die die Leber und z. T. auch die Lunge betreffen, sind folgende Strukturmerkmale kennzeichnend (3, 4, 12-14):

- Doppelbindung in der 1,2-Position des Pyrrolizidinrings,
- Veresterung der Hydroxymethylgruppe am C-1 des Ringsystems oder - wenn vorhanden - der Hydroxygruppe am C-7,
- Verzweigung der Alkylseitenkette in mindestens einer der veresterten Carbonsäuren.

Pyrrolizidinalkaloiden mit 1,2-ungesättigter Necinstruktur, die mit mindestens einer verzweigten C₅-Carbonsäure verestert sind, werden hepatotoxische, kanzerogene und mutagene Wirkungen zugeschrieben (13, 15). Dazu zählen die ungesättigten Pyrrolizidinalkaloide des Retronecin-, Heliotridin- und Otonecin-Typs, jedoch nicht die gesättigten Pyrrolizidinalkaloide des Platynecin-Typs (Abbildung 1).

Im Allgemeinen wird davon ausgegangen, dass sich die Wirkungen von Estern der Hydroxymethylgruppe am C-1 (Monoester) verstärken, wenn eine zweite OH-Gruppe in Position C-7 des Necins vorhanden ist. Eine weitere Wirkungsverstärkung wird angenommen, wenn diese OH-Gruppe ebenfalls verestert ist (Diester). Die stärksten toxischen und kanzerogenen Wirkungen werden zyklischen Diestern zugeschrieben (12, 13, 16).

In der Pflanze liegen, abgesehen von Pyrrolizidinalkaloiden des Otonecin-Typs, in der Regel Gemische der freien ungesättigten Pyrrolizidinalkaloide mit deren N-Oxiden vor (6). Letzteren wird bei oraler Applikation prinzipiell eine vergleichbare Toxizität wie der reduzierten Form der Alkaloide zugeschrieben, zu der sie durch Reduktasen im Darm metabolisiert werden.

3.1.2.2 Toxikokinetik und Wirkungsmechanismus

PA werden nach peroraler Aufnahme im Tierversuch in der Regel schnell resorbiert. Die Ausscheidung erfolgt nach teilweiser Metabolisierung vornehmlich über die Niere, zu gerin-

gerem Anteil mit den Faeces (14). Der im Organismus verbleibende Anteil liegt hauptsächlich in Form von an Gewebebestandteile gebundenen Metaboliten vor (3).

Quantitative Daten zur oralen Bioverfügbarkeit von PA beim Menschen sind nicht vorhanden. In vitro-Daten zeigen, dass sowohl aktiviert als auch detoxifiziert wird.

Die Verstoffwechslung der PA erfolgt durch Hydrolyse, N-Oxidation und Dehydrogenierung des Pyrrolizidinrings zu Pyrrolderivaten. Die bei der Hydrolyse frei werdenden Necinsäuren scheinen toxikologisch keine Relevanz zu besitzen. Gebildete N-Oxid-Metaboliten sind sehr gut wasserlöslich und werden schnell mit dem Urin ausgeschieden, so dass dieser Stoffwechselweg als Entgiftung betrachtet wird. Die in der Leber durch mischfunktionelle Oxidasen erfolgende Umwandlung der ungespaltenen Ester zu toxischen Pyrrolestern stellt jedoch eine Giftungsreaktion dar. Pyrrole dieses Typs sind als hochreaktive alkylierende Agenten in der Lage, mit nukleophilen Gruppen von Nucleinsäuren und Proteinen zu Addukten zu reagieren und werden als aktive Metaboliten angesehen, die die hepatotoxischen, hepatokanzerogene und mutagenen Wirkungen der PA bedingen (4, 14, 16-21).

Der Wirkmechanismus der kanzerogenen Wirkung (direkte oder indirekte DNA-Effekte) ist noch nicht geklärt. Dass PA auch extrahepatische Läsionen verursachen, wird auf die Hydrolyse der Pyrrolester unter Bildung von kanzerogenen und entwicklungstoxischen pyrrolischen Alkoholen, wie (\pm)6,7-Dihydro-7-hydroxy-1-hydroxymethyl-5H-pyrrolizin (DHP), zurückgeführt (3, 14). Letztere sind weniger kurzlebig und besser wasserlöslich als die Pyrrolester, so dass sie sich eher im Körper verteilen können (3, 14).

Speziesunterschiede bezüglich der Empfindlichkeit für PA-induzierte Toxizität werden auf Differenzen im Gleichgewicht zwischen entgiftenden und giftenden Metabolismen zurückgeführt (20). In vitro-Studien, bei denen die Metabolisierung von Riddelliin zu DHP und Riddelliin-N-Oxid in Gegenwart von Human-Lebermikrosomen im ähnlichen Ausmaß erfolgte wie mit Ratten-Lebermikrosomen (19), werden, wie auch ähnliche Ergebnisse mit Retrorsin, Retrorsin-N-Oxid, Riddelliin-N-Oxid und Monocrotalin-N-Oxid (18), als Hinweis gedeutet, dass Ergebnisse aus Rattenversuchen zur Tumorinduktion durch PA für den Menschen relevant sind.

Ungesättigte PA und die aus ihnen entstehenden Pyrrolderivate sind placentagängig und gehen in die Muttermilch über. So wiesen Rattenföten und gesäugte Rattenjunge, deren Müttern ungesättigte PA verabreicht wurden, u.a. akute und chronische Leberschäden auf (3).

3.1.2.3 Toxizität bei Mensch und Tier

Aufgrund von weltweit beobachteten Gesundheitsschäden bei Mensch und Nutztieren infolge der Aufnahme ungesättigter PA-enthaltende Pflanzenarten (landestypische Aufnahme als Nahrungs- oder Heilmittel, Verunreinigung von Nahrung oder Futter) sowie entsprechenden Fütterungsversuchen sind verschiedene Daten zur Toxikologie der ungesättigten PA publiziert. Dazu muss hier primär auf entsprechende Monographien und Übersichtsarbeiten verwiesen werden (3, 4, 14, 16, 22-24). Bekannt sind beim Menschen z. T. epidemische Lebererkrankungen mit Todesfällen in Pakistan, Indien und Afghanistan, das erst kürzlich regional erneut betroffen war (25), nach Verzehr von Getreide, das mit Samen von Sonnenwenden (*Heliotropium* spp.) oder *Crotalaria*-Arten kontaminiert war, und endemische Vergiftungen in Jamaika durch sogenannte Buschtees, die *Crotalaria*- und Kreuzkraut (*Senecio*)-Pflanzenteile enthielten. Das gehäufte Auftreten von Leberzirrhosen bei Schlachtrindern, die Alpenkreuzkraut (*Senecio alpinus*) mit Heu und Silage gefressen hatten, sowie die mit Leberdegeneration einhergehenden Seneciosen, die bei Pferden nach Aufnahme von *Senecio*-Arten beim Weiden beschrieben wurden, sind Beispiele aus der Tierhaltung (3, 16, 26-31).

Die toxischen Effekte der in größeren Dosen innerhalb kurzer Zeit aufgenommener ungesättigter PA manifestieren sich beim Menschen hauptsächlich an der Leber in Form venookklusiver Veränderungen (veno-occlusive disease, VOD), wobei der Verschluss der zentralen sublobulären Lebervenen pathognomisch ist. Die Toxizitätszeichen werden oft erst einige Tage nach der Exposition wahrgenommen, sodass das Erkennen der Vergiftungsursachen oft problematisch ist. Nach akuten und subakuten Intoxikationen werden klinisch zunächst zunehmende Schmerzen im Oberbauch, sich innerhalb weniger Tage schnell entwickelnder Aszites und manchmal Oligurie und Ödeme an den Füßen beobachtet. Als Begleitsymptome können Übelkeit und Erbrechen, seltener Gelbsucht und Fieber auftreten. In der Regel ist nach wenigen Wochen eine Lebervergrößerung und -verhärtung feststellbar, oft vergesellschaftet mit massivem Pleuraerguss. Neben einer VOD induzieren einige PA (z.B. Monocrotalin) auch pulmonal-arterielle Hypertensien, die ein akutes Rechtsherzversagen (Cor pulmonale) zur Folge haben können (3, 4, 26).

Die akute Erkrankung bringt eine hohe Mortalitätsrate mit sich. Der Tod kann 2 Wochen bis zu mehr als 2 Jahren nach der Exposition eintreten. Eine vollständige Genesung von der hepatischen VOD ist möglich. Eine chronische Erkrankung kann sich bei den Überlebenden einer akuten hepatischen VOD oder bei langfristiger Aufnahme kleiner Mengen ungesättigter PA entwickeln und zur Leberzirrhose führen. Diese ist unspezifisch, so dass auch hier die ursächliche Diagnose schwierig ist. Kinder erscheinen empfindlicher als Erwachsene (vgl. 3.1.2.3.1) (4, 32-34). Analoge Befunde ergaben sich aus Rattenversuchen (14). Pathologisch ist die akute Intoxikation mit ungesättigten PA durch läppchenzentrale toxische Leberzellnekrosen gekennzeichnet (3, 4, 16). Angaben zur LD 50 von PA nach intraperitonealer (i.p.) - Verabreichung sind Mattocks (4) zu entnehmen. Für Retrorsin-N-Oxid liegen Untersuchungen mit peroraler Verabreichung vor, bei denen für Ratten eine LD 50 von 48 mg/kg KG (Verabreichung über sieben Tage) festgestellt wurde (4).

Für die chronische Lebertoxizität ungesättigter PA beim Tier sind vergrößerte Hepatozyten mit großen, hyperchromatischen Zellkernen typisch. Dies wird als morphologische Manifestation des antimitotischen Effektes ungesättigter PA angesehen und beim Menschen nicht gefunden (3). In einer chronischen Ratten-Studie, in der Riddelliin per Schlundsondierung verabreicht wurde (Behandlung an 5 Tagen pro Woche für 105 Wochen), wurde für nicht-neoplastische Veränderungen ein No-Observed-Adverse-Effect-Level (NOAEL) von 0,01 mg/kg KG/Tag ermittelt (Hepatozytenmegalie bei 0,033 mg/kg KG/Tag) (24).

Im Tierversuch wird die kanzerogene Wirkung bestimmter ungesättigter PA (Lasiocarpin, Monocrotalin, Riddelliin) als gesichert angesehen und ein entsprechendes Risiko für den Menschen in Betracht gezogen (3, 16, 22-24, 35, 36). Bei anderen ungesättigten PA deuten die Tierstudien mit der Verbindung selbst oder ihren aktiven Metaboliten ebenfalls auf eine kanzerogene Wirkung hin (z.B. Isatidin, Jacobin, Retrorsin, Seneciphyllin, Senkirkin, Petasitenin), jedoch ist hier die Datenlage unvollständig (3, 22, 36, 37). Vielfach zeigten Verbindungen, die sich im Tierversuch als Kanzerogen erwiesen, auch positive Resultate bei der Mutagenitätstestung (3, 38). Die niedrigste BMDL10 (benchmark dose lower confidence limit 10 %) von 0,073 mg/kg KG/Tag wurde aus einer Kanzerogenitätsstudie mit Lasiocarpin aus Befunden an männlichen Ratten abgeleitet (35, 39). In dieser Studie war Fischer 344- Ratten über 104 Wochen Lasiocarpin mit dem Futter in Dosierungen von 7, 15, und 30 mg Lasiocarpin/kg (äquivalent zu 0,35, 0,75 und 1,5 mg/kg KG/Tag) verabreicht worden. Leberangiosarkome waren bei 13 von 23 männlichen und 2 von 23 weiblichen Ratten in der höchsten Dosis, bei 11 von 23 männlichen und 7 von 24 weiblichen Ratten in der mittleren Dosis und bei 5 von 24 männlichen und 8 von 22 weiblichen Ratten in der niedrigsten Dosis beobachtet worden (35).

Aus Tierversuchen ist die embryotoxische Wirkung bestimmter PA bekannt, jedoch sind die Daten spärlich und es liegen keine Kenntnisse über mögliche entwicklungstoxische Effekte am Menschen vor (3, 4).

3.1.2.3.1 Vergiftungen beim Menschen

Aufgrund der Beschreibung von Vergiftungen nach beabsichtigter oder versehentlicher Aufnahme PA-haltigen Pflanzenmaterials liegen wenige Informationen vor, die nur begrenzt Rückschlüsse erlauben, in welchen Dosierungen ungesättigte Pyrrolizidinalkaloide beim Menschen nach kurz- oder längerfristiger Exposition Toxizität zeigen können (3, 5).

Akut toxische Dosen

Es sind nur zwei Fälle in der Literatur beschrieben, die aussagekräftige Dosisangaben zu Vergiftungen nach kurzfristiger, nämlich 4- bzw. 14-tägiger Exposition enthalten. Es handelt sich um die Erkrankungen eines 6 Monate alten Mädchens (Körpergewicht: 6 kg) und eines 2 Monate alten Jungen (Körpergewicht: unbekannt), beide mexikanisch-amerikanischer Abstammung, denen *Senecio longilobus* als Kräutertee verabreicht worden war (40-42). Das Mädchen zeigte zunächst Aszites und Pleuraerguss, nach 2 Monaten eine sinusoidale Leberfibrose und 6 Monate später eine Leberzirrhose. Der Junge litt an Hämatemesis, entwickelte eine Gelbsucht mit ausgesprägter Hepatomegalie, wies zentralnervöse Krämpfe, Bradykardie und Apnoeperioden auf und verstarb nach 6 Tagen.

Die Kräutertees enthielten bezogen auf das Trockengewicht im ersten Fall 0,3 % PA (hauptsächlich Riddelliin) und 1 % N-Oxide (hauptsächlich von Retrorsin, zu geringeren Anteilen von Seneciphyllin und Senecionin abstammend) und im zweiten Fall 0,5 % PA und 1 % N-Oxide. An Hand der Analysenbefunde der Kräuterteeaufgüsse und des Verabreichungsschemas wurde errechnet, dass das 6 kg schwere Mädchen über eine 2-wöchige Periode insgesamt zwischen 70 und 147 mg, entsprechend 12 - 25 mg/kg KG, und der Junge (angenommenes KG: 5,5 kg) (3) über einen Zeitraum von 4 Tagen insgesamt etwa 66 mg, entsprechend 17 mg/kg KG an PA aufgenommen hatte. Demzufolge ergeben sich als geschätzte Tagesdosen bei dem Mädchen 0,8 - 1,7 mg/kg KG und bei dem Jungen 3 mg/kg KG für ein Gemisch von PA mit Riddelliin und Retrorsin-N-Oxid als Hauptbestandteile.

Toxische Dosen bei mittel- und längerfristiger Exposition

In der Literatur wird ein Fall einer VOD nach viermonatiger Einnahme einer Zubereitung von „Comfrey“-Blättern (keine Angabe der *Symphytum* (Beinwell) -Spezies) beschrieben, die bis zu 0,27 g Alkaloide/kg enthielten. Zusätzlich war über einen längeren Zeitraum ein PA-haltiger Kräutertee konsumiert worden. Die Autoren schätzten, dass während sechs Monaten täglich eine Dosis von 15 µg Alkaloid/kg KG/Tag zugeführt wurde (Hauptalkaloid: Echimidin) (3, 39, 43). Diese Annahme ist allerdings mit Unsicherheiten behaftet, da die betroffene Person PA aus verschiedenen Quellen aufgenommen hat (3, 39).

Eine VOD, die in einem Fall tödlich verlief, wurde auch jeweils bei vier Chinesinnen nach 19- bis 46-tägigem Konsum eines Kräutertees auf der Basis von *Heliotropium lasiocarpum* diagnostiziert. Es waren schätzungsweise über 45, 46, 19 oder 21 Tage täglich 0,59, 0,49 (tödlicher Verlauf), 0,60 oder 0,71 mg PA (Heliotrin)/kg KG/Tag aufgenommen worden (3, 44-46).

In zwei indischen Fällen einer VOD nach 20- bis 50-tägiger Einnahme von *Heliotropium eichwaldii* zu medizinischen Zwecken war eine Exposition mit 3,3 mg PA (Heliotrin)/kg KG/Tag berechnet worden (3, 47).

Bei in Afghanistan und Indien gehäuft aufgetretenen Fällen von VOD infolge des Verzehrs von Getreide, das mit PA-haltigen Samen kontaminiert war, wurde geschätzt, dass über Zeiträume von sechs oder zwei Monaten täglich 0,033 bzw. 0,66 mg PA/kg KG/Tag aufgenommen worden war, wobei als Hauptalkaloide Heliotrin bzw. Crotonanin und Crotaburmin angenommen wurden (3, 48-50).

3.1.2.3.2 Bestehende Beurteilungen des BfR sowie anderer nationaler sowie internationaler Gremien

Die WHO stellte bereits 1988 fest, dass die toxischen Wirkungen der PA kumulativen Charakter besitzen. Daher können auch niedrige chronische Expositionen ein gesundheitliches Risiko darstellen (3). Als Langzeit-Effekte beim Menschen stehen die Leberzirrhose und die Entstehung von Tumoren im Vordergrund. Bisher gibt es jedoch keine aussagekräftigen follow up oder epidemiologischen Studien, in denen über längere Zeit eine Dosis-Wirkungsbeziehung untersucht worden wäre. Bezüglich der o.g. Fallbeschreibung hinsichtlich einer Leber-Erkrankung nach PA Aufnahme über Beinwellblätter (43), bei der die tägliche Aufnahme 15 µg PA (Hauptalkaloid: Echimidin)/kg KG betrug, wurde diese Dosis auf Heliotrin umgerechnet. Da PA aus *Symphytum officinale* schwächer wirksam sind, wurde aus dem Verhältnis der LD 50 Werte (i.p.-Applikation) ein Dosis-Äquivalent von 10 µg Heliotrin/kg KG und Tag hergeleitet, von dem angenommen wurde, dass es noch zu Erkrankungen beim Menschen führen dürfte.

Für Arzneimittel wurden 1992 in Deutschland im Rahmen eines Stufenplanverfahrens nicht zu überschreitende Höchstmengen für Pyrrolizidinalkaloide mit einem 1,2-ungesättigten N-cingerüst sowie deren N-Oxide festgelegt, die nach wie vor gültig sind. Bei Arzneimitteln mit anerkannten Anwendungsgebieten gemäß Monographien nach § 25 Abs. 7 Arzneimittelgesetz (AMG) darf hiernach die tägliche Exposition bei maximaler Dosierung folgende Werte nicht übersteigen: 100 µg PA/Person bei externer Anwendung, 1 µg PA/Person bei innerer Anwendung, 10 µg PA/Person bei der Anwendung von Huflattichblättern als Teeaufguss. Bei diesen Arzneimitteln ist außerdem die empfohlene Dauer der Anwendung auf maximal 6 Wochen pro Jahr zu begrenzen und es soll bei nicht-topischer Applikation keine Anwendung in Schwangerschaft und Stillzeit erfolgen. Von dieser Regelung sind - neben bestimmten homöopathischen Arzneimitteln - PA-haltige Arzneimittel ausgenommen, bei deren maximaler Dosierung eine tägliche Exposition von 0,1 µg PA/Person bei innerer Anwendung und 10 µg PA/Person bei externer Anwendung nicht überschritten wird (15).

Die „Australia New Zealand Food Authority“ (ANZFA) hatte sich 2001 vorwiegend mit den „non cancer effects“ beschäftigt und auf der Basis der Daten aus der vorstehenden Fallbeschreibung einen „tentative NOAEL“ für alle PA von 10 µg/kg KG/Tag vorgeschlagen. Bei Anwendung eines Unsicherheitsfaktors von 10 würde ein PTDI (provisional tolerable daily intake) von 1 µg/kg KG/Tag resultieren. Außerdem wurde betont, dass bisher keine Evidenzen zur Humankarzinogenität von PA vorliegen (51).

Die DFG-Senatskommission zur Beurteilung der gesundheitlichen Unbedenklichkeit von Lebensmitteln (SKLM) kam 2002 zu dem Schluss, dass die Datenlage zu Gehalten von PA in Honigen, die aus PA-haltigen Pflanzen gewonnen wurden (z.B. Kreuzkraut- bzw. Natternkopfhonig) sowie die Datenlage zur Exposition des Verbrauchers mit PA als unzureichend zu beurteilen sind. Auch wurde die Datenbasis zur Toxikologie solcher PA und zum Metabolismus beim Menschen als noch lückenhaft beurteilt, so dass keine abschließende Risikobewertung vorgenommen werden konnte. Weiterhin empfahl die SKLM, zunächst besonderes Augenmerk auf Produkte zu richten, die unter Verwendung von Pollen aus PA-haltigen

Pflanzen hergestellt würden. Diese Produkte würden als Nahrungsergänzungsmittel in den Handel gelangen und vermutlich in größeren Mengen verzehrt (52).

2005 hat das „Dutch National Institute for Public Health and the Environment“ (RIVM) „non cancer effects“ beurteilt. Hierbei hat es tierexperimentelle Untersuchungen miteinbezogen. Auf der Basis des NOAEL von 0,01 mg/kg KG und Tag für nicht-neoplastische Veränderungen aus der chronischen Ratten-Studie mit Riddelliin (24) und einem Unsicherheitsfaktor von 100 wurde eine „tolerierbare tägliche Aufnahme“ (tolerable daily intake, TDI) von 0,1 µg/kg KG/Tag abgeleitet. Hinsichtlich der Risikobewertung einer krebserzeugenden Wirkung der PA hat das RIVM aus derselben Studie eine sog. „Virtually Safe Dose“ (VSD) für PA von 0,00043 µg/kg KG und Tag abgeleitet. Das ist jene Dosis, die noch zu einem Krebs-Risiko von eins zu einer Million führen soll (53).

Das englische „Committee on Toxicity of Chemicals in Food, Consumer Products and Environment“ (COT) hat 2008 ebenfalls „non cancer effects“ bewertet. Aus der Ratten-Studie mit Riddelliin wurde unter Anwendung eines Unsicherheitsfaktors von 100 und einem NOAEL von 0,01 mg/kg KG/ Tag abgeleitet, dass unterhalb von 0,1 µg Riddelliin/kg KG/ Tag „non-cancer-effects“ nicht zu erwarten sind. Das COT empfiehlt dabei, dass das Verhältnis der LD 50 Werte benutzt werden kann, um andere PA in Riddelliin-Äquivalente umzurechnen. Hinsichtlich ihrer krebserzeugenden Wirkung wurden PA vom englischen COT als Gruppe mit kumulativer Wirkung angesehen. Hierbei wurde die niedrigste BMDL10 von 0,073 mg/kg KG/Tag, die aus der Studie mit Lasiocarpin und männlichen Ratten (35) abgeleitet worden war, eingesetzt, um den MOE (Margin of Exposure) für einzelne PA oder deren Summe abschätzen zu können. Gemäß den EFSA (European Food Safety Authority)-Richtlinien wurde von einem MOE von 10000 ausgegangen (2). Auf dieser Basis kam das COT zu dem Schluss „MOEs of 10000 and above, corresponding to doses of up to 0.007 µg /kg body weight/day, would be unlikely to be of concern.“ (39).

In einem 2011 veröffentlichten „Discussion Paper on Pyrrolizidine alkaloids“ des Codex Committee on Contaminants in Food werden verfügbare Bewertungen, Regulierungen, Analysenmethoden sowie Daten zum Vorkommen und zur Toxizität von Pyrrolizidinalkaloiden zusammengefasst und Empfehlungen für eine künftige Bewertung durch JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives) sowie für die Einrichtung eines „Code of Practice“ zur Vermeidung und Reduzierung der Kontamination mit PA gegeben (5).

Seitens des BfR war bis zum Jahr 2011 bei der Risikobewertung von PA in Lebensmitteln an dem mit dem Arzneimittelbereich abgestimmten Bewertungsansatz festgehalten worden, der im Zusammenhang mit dem o.g. Stufenplanverfahren für PA-haltige Arzneimittel 1992 etabliert wurde. Dabei war, wie bei bestimmten Arzneimitteln, auch im Lebensmittelbereich gefordert worden, dass die maximale Tageszufuhr von 0,1 µg PA/Person möglichst nicht überschritten werden sollte (15). In seiner Stellungnahme vom 11.08.2011 (10) empfahl das BfR unter Bezug auf das Ergebnis eines Expertengesprächs vom 04. März 2010, die Gesamtexposition des Verbrauchers mit genotoxischen und kanzerogen wirkenden 1,2-ungesättigten Pyrrolizidinalkaloiden (PA) aus verschiedenen Lebensmitteln so niedrig wie möglich zu halten. Auf der Basis des derzeit in der EU üblichen MOE-Ansatzes und in Übereinstimmung mit der Bewertung des COT wurde außerdem empfohlen, dass eine Tageszufuhr von 0,007 µg ungesättigten PA/kg Körpergewicht (KG) möglichst nicht überschritten werden sollte. Dies entspricht der Einhaltung eines MOE von mindestens 10000. Diese Einschätzungen hat nach wie vor Bestand und wird im Kapitel Risikocharakterisierung erläutert (vgl. 3.1.4). Nach Auswertung von Analysendaten zum Vorkommen von PA in Honigen erachtete das BfR Anstrengungen für notwendig, die PA-Gehalte in Honigen zu senken, um mögliche Risiken für Vielverzehrer von Honig und insbesondere Kinder zu minimieren.

Das Gremium für Kontaminanten in der Lebensmittelkette (CONTAM) der EFSA hatte 2007 im Rahmen einer Stellungnahme zur Bewertung von Pyrrolizidinalkaloiden als unerwünschte Substanzen in Futtermitteln Kenntnislücken bezüglich der Exposition aufgezeigt und darauf hingewiesen, dass das Vorkommen von PA im Honig besondere Beachtung verdient. Weiterhin wurde empfohlen, sich bei der analytischen Überprüfung zum Vorkommen in Futtermitteln auf ausgewählte PA zu konzentrieren: Senecionin, Seneciphyllin, Erucifolin, Monocrotalin, Trichodesmin, Heliotrin, Indicin, Intermedin und Lycopsamin (54). Im Jahr 2011 wurde vom CONTAM-Panel der EFSA ein neues Gutachten zur Risikobewertung von Pyrrolizidinalkaloiden in Lebens- und Futtermitteln veröffentlicht (55). Auch in diesem Gutachten wurde der MOE-Ansatz zur Abschätzung des potenziellen Krebsrisikos, das von der Exposition mit PA in Lebensmitteln ausgeht, gewählt, wobei ebenfalls die BMDL10 von 0,073 mg/kg KG/Tag, die aus der Studie mit Lasiocarpin und männlichen Ratten (35) abgeleitet worden war, als Referenzpunkt genommen wurde. Obwohl es möglicherweise noch weitere mögliche Quellen der PA-Exposition in Betracht zog, sah sich das CONTAM-Gremium aufgrund fehlender Daten nicht in der Lage, die Exposition durch andere Lebensmittel als Honig zu quantifizieren. Bei Kleinkindern und Kindern, die große Mengen an Honig verzehren, folgte das Gremium in Übereinstimmung mit dem BfR, könne der MOE-Wert deutlich unter 10000 liegen, was auf mögliche Gesundheitsbedenken hindeutet.

3.1.3 Analytik

3.1.3.1 Analysenkonzept

Im Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) wurde im Rahmen eines Forschungsprojektes eine Analysenmethode für die Bestimmung von PA in Kräutertee- und Teeproben entwickelt und inhouse validiert. Mit dieser Methode wurden Kräutertee- und Teeproben aus dem deutschen Einzelhandel auf 17 PA untersucht. Für jede Probe wurde der Gesamt-PA-Gehalt als Summe aus den ermittelten Einzelgehalten berechnet und zur Bewertung des gesundheitlichen Risikos durch das Vorkommen von PA in Kräutertee-/Teesorten herangezogen.

3.1.3.2 Analysenmethode

Der Nachweis der PA basiert auf einer sauren Extraktion, einer Reinigung und Anreicherung mittels Festphasenextraktion, nachfolgender flüssigchromatographischer Trennung und massenspektrometrischer Detektion (LC-MS/MS). Analysiert werden 17 derzeit als Standardsubstanz kommerziell verfügbare PA (Echimidin, Heliotrin, Heliotrin-N-Oxid, Intermedin, Lasiocarpin, Lasiocarpin-N-Oxid, Lycopsamin, Monocrotalin, Monocrotalin-N-Oxid, Retrorsin, Retrorsin-N-Oxid, Senecionin, Senecionin-N-Oxid, Seneciphyllin, Seneciphyllin-N-Oxid, Senkirkin und Trichodesmin). Die Identifizierung dieser PA in den Proben erfolgt durch Vergleich der Retentionszeiten mit denen der Standardsubstanzen sowie der Detektion von mindestens zwei Übergängen des jeweiligen Molekül-Ions auf substanzspezifische Fragment-Ionen.

In Tabelle 1a sind die ermittelten Nachweis- und Bestimmungsgrenzen der Methode für die 17 Analyten zusammengestellt.

Tabelle 1a: Nachweis (NWG)- und Bestimmungsgrenzen (BG) nach DIN ISO 32645 (56) in Kräutertee und Tee (Ergebnisse der inhouse-Validierung)

Analyt	NWG ($\mu\text{g PA/kg Tee}$)	BG ($\mu\text{g PA/kg Tee}$)
Echimidin	0,9	2,9
Heliotrin	0,9	2,9
Heliotrin-N-oxid	5,3	13,3
Intermedin	1,5	4,7
Lasiocarpin	1,1	3,4
Lasiocarpin-N-oxid	5,4	12,2
Lycopsamin	1,2	3,9
Monocrotalin	1,0	3,2
Monocrotalin-N-oxid	2,0	6,2
Retrorsin	49,1	151,8
Retrorsin-N-oxid	16,5	48,7
Senecionin	22,1	64,1
Senecionin-N-oxid	15,8	46,8
Seneciphyllin	2,4	7,8
Seneciphyllin-N-oxid	5,6	14,3
Senkirkin	1,7	5,3
Trichodesmin	1,1	3,5

Tabelle 1b zeigt pro Kräuterteesorte in wie vielen Proben (Insgesamt: 161; Angabe in %) mindestens eines PA der 17 untersuchten PAs über der Nachweisgrenze liegt. Bei Kräutertee liegt in 88 % der Proben mindestens ein PA über der Nachweisgrenze. Bei Fencheltee liegt in 57 % der Proben mindestens ein PA über der Nachweisgrenze.

Tabelle 1b: Anteil Proben je Teesorte über der Nachweisgrenze in %

Teesorte	n	%> LOD
Kräutertee	42	88,1 %
Pfefferminztee	29	86,2 %
Kamillentee	31	87,1 %
Fencheltee	30	56,7 %
Babyfencheltee	9	100,0 %
Brennesseltee	12	91,7 %
Melissentee	8	100,0 %

3.1.3.2 Absicherung der ermittelten PA-Gehalte

3.1.3.2.1 Qualitative Absicherung

Die Spezifität von LC-MS/MS Methoden ist als sehr hoch einzustufen. Die Identifizierung der 17 PA-Einzelsubstanzen in den Proben erfolgte anhand der Retentionszeiten und der Aufnahme von zwei bzw. drei substanzspezifischen Massenfragmenten unter Einhaltung der Leistungskriterien an massenspektrometrische Analysenmethoden gemäß Entscheidung (EG) 2002/657/EG (57). In der hier angewendeten Methode gilt ein PA als sicher identifiziert, wenn die Retentionszeit und die Molekülmasse mit dem entsprechenden PA-Standard übereinstimmen und wenn in der Probe aus dem Molekül-Ion mindestens zwei Fragment-Ionen in einem vergleichbaren Verhältnis gebildet werden wie im entsprechenden PA-Standard. Eine zusätzliche Bestätigung der Identität der PA erfolgte unter Anwendung des Standardadditionsverfahrens. Dafür wurden ausgewählte PA-haltige Proben mit definierten Mengen an PA-Standards aufgestockt und anschließend die Zunahme des massenspektrometrischen Signals des betreffenden PA geprüft. Zusätzlich wurden in ausgewählten Proben von den relevanten Analyten Produkt-Ionen-Spektren aufgenommen. Das heißt, dass das gesamte Fragmentierungsmuster der PA-Molekül-Ionen erfasst und mit denen der Standardsubstanzen verglichen wurde.

3.1.3.2.2 Quantitative Absicherung

Ausgewählte Proben mit besonders hohen PA-Gehalten wurden in mehreren Schritten verdünnt und die damit verbundene Abnahme des PA-Signals auf Linearität geprüft. Signalverstärkungen oder –suppressionen durch eine matrixbedingte Erhöhung oder Abnahme der Ionisationsrate (Ion Enhancement / Ion Suppression) und dadurch verursachte Über- bzw. Unterschätzungen der PA-Gehalte konnten damit für die als Standardsubstanz vorhandenen PA ausgeschlossen werden (58).

3.1.3.3 Internationale Methodvalidierungsstudie

Die entwickelte und inhouse validierte Methode zur Bestimmung von PA in Kräutertee/Tee wird derzeit vom BfR in einem internationalen Ringversuch nach dem Protokoll von ISO/IUPAC/AOAC (59) validiert. Ziel ist die Standardisierung der Methode. Gegenstand der Methodvalidierungsstudie ist außerdem eine Methode zur Bestimmung von PA in Honig. Derzeit findet vorbereitend der Voringversuch zur Validierung der Methoden unter internationaler Beteiligung (24 Teilnehmer) statt.

3.1.4 Ermittelte PA-Summengehalte in Kräutertee und Tee

Die Auswertung der Gehalte an PA in verschiedenen Kräutertee- und Teesorten basiert auf Daten von insgesamt 221 handelsüblichen Proben (184 im Lebensmitteleinzelhandel und 37 Teedrogen aus der Apotheke), die im Zeitraum Oktober 2012 bis März 2013 im Raum Berlin erworben wurden. Die Proben unterliegen keiner repräsentativen Stichprobenziehung auf dem deutschen Markt befindlicher Teeprodukte. Im Fokus standen hierbei Kräutertees wie Fencheltee, Kamillentee, Pfefferminztee und Kräuterteemischungen. Darüber hinaus wurden unter anderem auch Schwarzer und Grüner Tee sowie Roibuschtee analysiert.

In Tabelle 2 werden die Gehaltsdaten zu PA für die im Einzelhandel erworbenen Teeproben dargestellt. Dabei wurden aus den vorliegenden 17 PA, für die jeweils Einzelmessungen vorlagen, je Probe die PA-Summe gebildet: Intermedin, Lycopsamin, Heliotrin, Heliotrin-N-Oxid, Echimidin, Lasiocarpin, Lasiocarpin-N-Oxid, Monocrotalin, Monocrotalin-N-Oxid, Retrorsin, Retrorsin-N-Oxid, Trichodesmin, Seneciophyllin, Seneciophyllin-N-Oxid, Senecionin, Senecio-

nin-N-Oxid, Senkirkin. Die dargestellten Gehalte und Berechnungen beziehen sich im Folgenden immer auf die PA-Summe. Aufgrund der Unsicherheiten, die sich mit einer hohen Anzahl an Werten unterhalb der Nachweis (NWG)- bzw. Bestimmungsgrenze (BG) ergeben, erfolgte die Auswertung der Gehaltsdaten in Anlehnung an die in der Dioxin-Analytik entwickelten Verfahren (60) nach lower bound (LB; Werte $< \text{NWG} \Rightarrow 0$ bzw. $< \text{BG} = \text{NWG}$)⁴, medium bound (MB; Werte $< \text{NWG}$ bzw. BG werden auf halbe NWG bzw. Bestimmungsgrenze gesetzt) und upper bound (UB; Werte $< \text{NWG}$ bzw. BG werden auf ganze NWG bzw. BG gesetzt). Hier wird deutlich, dass zum Einen die Gehalte gleicher Teesorten zum Teil sehr stark variieren, also eine große Spanne zwischen den minimalen und den maximalen Werten liegt. Zum Anderen unterscheiden sich die Gehalte an PA in Abhängigkeit der Teesorte teilweise erheblich. So weisen Fencheltee (einschließlich Babyfencheltee) und Grüner Tee im Vergleich zu den anderen Teesorten im Durchschnitt eher geringere Gehalte auf [MW(UB) = 181 bzw. 197 $\mu\text{g}/\text{kg}$]. Kamillen- und Melissentee zeigen im Gegensatz dazu die höchsten durchschnittlichen Werte an PA [MW(UB) = 554 bzw. 763 $\mu\text{g}/\text{kg}$].

⁴ Je nach individueller Probe: Wird der Wert als $< \text{NWG}$ angegeben, wurde der Wert = 0 gesetzt und für die Auswertung verwendet. Wird der Wert als $< \text{BG}$ angegeben, wurde die NWG verwendet.

Tabelle 2: Gehalte an PA in verschiedenen Kräutertee- und Teesorten nach LB¹, MB², UB³ in µg/kg Trockenprodukt

Teesorten		n	Min	MW	Median	P95	Max
Babyfencheltee	LB	9	0,9	50,8	58,1	*)	94,5
	MB	9	68,8	116,3	122,7	*)	157,4
	UB	9	135,8	182,5	186,4	*)	226,1
Fencheltee	LB	30	0,0	47,9	1,4	527,5	904,2
	MB	30	67,8	114,9	69,2	590,6	965,5
	UB	30	133,8	181,0	136,3	652,3	1026,0
Kamillentee	LB	31	0,0	420,8	256,1	2556,1	3428,8
	MB	31	67,8	478,9	310,2	2597,0	3435,0
	UB	31	133,8	553,7	379,0	2661,2	3441,2
Kräutertee	LB	42	0,0	137,2	24,5	770,7	1469,8
	MB	42	67,8	199,0	89,8	809,8	1530,5
	UB	42	133,8	270,3	160,4	888,8	1589,6
Pfefferminztee	LB	29	0,0	127,2	67,8	620,2	766,1
	MB	29	67,8	188,0	131,8	671,6	827,5
	UB	29	133,8	258,5	206,9	735,6	887,2
Brennesseltee	LB	12	0,0	197,6	91,6	*)	1140,9
	MB	12	67,8	263,4	158,5	*)	1205,6
	UB	12	133,8	329,0	224,2	*)	1276,1
Melissentee	LB	8	32,1	646,5	649,5	*)	1499,1
	MB	8	95,1	692,0	688,7	*)	1528,0
	UB	8	169,3	763,2	752,1	*)	1558,7
Daten der Teesorten, die nicht in der Expositionsschätzung berücksichtigt wurden							
Grüner Tee	LB	8	0,0	63,9	8,1	*)	384,1
	MB	8	67,8	128,3	74,9	*)	435,8
	UB	8	133,8	196,5	141,5	*)	486,9
Roibuschtee	LB	7	79,8	199,8	140,4	*)	409,6
	MB	7	139,3	250,8	198,8	*)	448,4
	UB	7	214,9	316,0	295,6	*)	498,6
Schwarzer Tee	LB	8	1,2	170,7	33,2	*)	1001,7
	MB	8	69,1	234,0	100,5	*)	1054,9
	UB	8	136,4	306,2	166,9	*)	1155,5

*) Wegen der geringen Zahl an untersuchten Proben konnte ein 95. Perzentil (P95) nicht berechnet werden.
¹lower bound (Werte < NWG werden 0 gesetzt; Werte <BG werden auf die Nachweisgrenze gesetzt); ²medium bound (Werte < NWG/BG werden auf halbe NWG/BG gesetzt); ³upper bound (Werte < NWG/BG werden auf ganze NWG/BG gesetzt).

3.1.5 Exposition

Die Schätzung der Exposition erfolgt auf der Basis der im Kapitel 3.1.4 und in Tabelle 2 dargestellten Kräutertees⁵ und der im folgenden Kapitel 3.1.5.1 dargelegten Daten zum Verzehr. Dabei wurden alle Angaben zur Konzentration und zum Verzehr auf die getrockneten Kräuter bezogen. Verzehrangaben, die sich auf den Verzehr der Aufgüsse beziehen, wurden nach der in Kapitel 3.1.5.3 dargelegten Formel auf die Trockenform umgerechnet.

Die Schätzung der Exposition wird für Erwachsene und Kinder vorgenommen. Der Konsum von Kräuterteeaufgüssen wird aber nicht auf die verschiedenen Teearten, sondern auf alle Teeaufgüsse gemeinsam bezogen, da keine differenzierten Daten für den Konsum vorliegen. Dieses Verfahren führt insgesamt zu einer leichten (und erwünschten) Überschätzung der Exposition. Dies trifft insbesondere die Teesorten mit tendenziell geringerer Belastung. Auf die entsprechenden Unsicherheiten aus diesem Verfahren wurde hingewiesen. Die Ergebnisse werden für Tee und Kräutertee dargestellt. Dabei bezeichnet „Kräutertee“ alle als solche ausgewiesenen Arten von Kräutern, aus denen Teeaufgüsse hergestellt werden. Tee (gesamt) bezeichnet alle Arten und nicht weiter spezifizierte Tees.

3.1.5.1 Verzehrstudien

Nationale Verzehrstudie II

Als Datengrundlage hinsichtlich des Verzehrs von Teeaufguss bei Jugendlichen und Erwachsenen diente die Nationale Verzehrstudie II (NVS II) des Max Rubner-Institutes (MRI). 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 (61).

Die Auswertungen basieren auf den Daten der beiden unabhängigen 24h-Recalls der NVS II, die in einem computergestützten Interview mittels „EPIC-SOFT“ erhoben wurden (61, 62). 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 Expositionsschätzungen bei akuten als auch bei chronischen Risiken geeignet. Für die Aufnahmeschätzungen wurden die individuellen Körpergewichte der Befragten zugrunde gelegt.

VELS

Als Datengrundlage zum Verzehr von Teeaufguss für Kinder wurden Verzehrdaten aus der VELS-Studie herangezogen (63, 64). Die Studie wurde zwischen 2001 und 2002 an 816 Säuglingen und Kleinkindern im Alter zwischen 6 Monaten bis unter 5 Jahren in ganz Deutschland durchgeführt. Die Eltern haben für jedes Kind zweimal 3-Tage-Ernährungsprotokolle über alle verzehrten Lebensmittel geführt. Für die Aufnahmeberechnung wurden Verzehrdaten der Kinder zwischen 2 und 5 Jahren mit einem durchschnittlichen Körpergewicht von 16,15 kg zugrunde gelegt. Aufgrund des Vorliegens von Verzehrangaben zu einzelnen Tagen sind die 2x3-Tage Ernährungsprotokolle sowohl für Expositionsschätzungen bei akuten als auch bei chronischen Risiken geeignet, wobei die Nutzung von wenigen Einzeltagesmessungen für die Berechnung einer lebenslangen Aufnahme mit Unsicherheiten verbunden ist, die insbesondere bei Aussagen zu detaillierten Lebensmittel-

⁵ Zur Verwendung der Begriffe „Tee“ „Kräutertee“ siehe auch Fussnote Nr. 1

gruppen oder bei Schätzungen mit einem hohen Prozentsatz Nichtverzehrer zu beachten sind.

3.1.5.2 Datengrundlage

Als Datengrundlage für die Berechnung der Exposition werden die Gehaltsdaten von Babyfencheltee, Fencheltee, Kamillentee, Kräutertee, Pfefferminztee, Melissen- und Brennesseltee aus Tabelle 2 berücksichtigt und auf Grundlage der Einzeldaten als Gruppe „Kräutertee“ zusammengefasst (siehe Tabelle 3).

Tabelle 3: Gehalte an PA in der Gruppe „Kräutertee“ nach LB, MB, UB¹ in µg/kg Trockenprodukt

		N	Min	MW	Median	P95	Max
Gruppe „Kräutertee“	LB	161	0,0	198,4	54,5	901,5	3428,8
	MB	161	67,8	259,9	120,6	960,7	3435,0
	UB	161	133,8	330,0	190,0	1027,6	3441,2

*fett markierte Werte sind in die Expositionsschätzung eingegangen

¹lower/medium/upper bound: vergl. Kapitel 3.1.4 und Tabelle 2.

3.1.5.3 Auswertung der Verzehrdaten

Erwachsene 14 – 80 Jahre

Für die Auswertung der Verzehrdaten der NVS II für die erwachsene deutsche Bevölkerung wurden die Lebensmittelgruppen „Tee (gesamt)“ sowie „Kräutertee“ betrachtet. Instanttees wurden nicht berücksichtigt. Es wurden für die Gesamtbevölkerung jeweils langfristige Verzehrsmengen auf Basis aller Befragter (inklusive Nichtverzehrer) sowie kurzfristige, maximale Verzehrsmenge auf Basis der Verzehrer von Kräutertee und Tee berechnet. Eine speziellere Kategorisierung der Kräuterteerorten ist aufgrund fehlender Daten der NVS II nicht möglich. Die berechnete Verzehrsmenge als Getränk in ml wurde unter der Annahme umgerechnet, dass in einem Teebeutel 2 g Kräutertee- bzw. Tee-Trockenprodukt enthalten sind, die mit 200 ml Wasser aufgebrüht werden. Dabei wird von einem 100 %igen Übergang der PA vom Kräutertee und Tee in das Getränk ausgegangen. Die für die Expositionsschätzung verwendeten Daten sind in Tabelle 4 als Verzehrsmenge in Gramm pro Tag mit Bezug zum Körpergewicht dargestellt. Langfristig verzehrt damit die erwachsene Bevölkerung im Durchschnitt 0,03 g Tee pro kg Körpergewicht (KG), was einer Menge von 3 ml Teeaufguss entspricht bzw. 0,15 g Tee pro kg KG bei den Vielverzhern (95. Perzentil), gleichbedeutend mit 15 ml Teeaufguss. Bei der alleinigen Betrachtung von Kräutertee reduziert sich die verzehrte Menge auf etwa 0,02 g Tee pro kg KG (MW) bzw. auf 0,09 g Tee pro kg KG bei Vielverzhern.

Eine Darstellung des Verzehrs zwischen den Geschlechtern und Altersgruppen erfolgt hier nicht, da diese nicht in die Expositionsschätzung einfließen. Es lässt sich jedoch festhalten, dass die Verzehrsmengen bei Frauen für Kräutertee und Tee etwas höher liegen als bei Männern. Zudem lässt sich ein zunehmender Trend im Teeverzehr mit dem Alter verzeichnen.

Tabelle 4: Verzehr von Kräutertee und Tee (gesamt) von Erwachsenen nach NVS II (24h-recall), bezogen auf das Trockenprodukt

	Anteil Verzehrer	Langzeitverzehr (alle Befragte)		Kurzzeitverzehr (nur Verzehrer)
		MW (g/kg KG/d)	P 95 (g/kg KG/d)	P95 (g/kg KG/d)
Tee (gesamt)	43%	0,032	0,153	0,291
Kräutertee	22%	0,015	0,093	0,269

Kinder, 6 Monate bis < 5 Jahre

Die Verzehrsdaten für die Langzeit- und Kurzeitaufnahme bei Kindern (von 6 Monaten bis < 5 Jahre, die nicht mehr gestillt werden) anhand der 3-Tage-Ernährungsprotokolle der VELS-Studie wurden hinsichtlich der Lebensmittelgruppe „Tee (gesamt)“ sowie dem Szenario „Kräutertee + Tee nicht näher spezifiziert (nns)“ ausgewertet. Dabei besteht die konservative Annahme, dass es sich bei allen nicht näher spezifizierten Teesorten um Kräutertees handelt. Wie bei den Erwachsenen wurde die berechnete Verzehrsmenge als Getränk in ml unter der Annahme umgerechnet, dass in einem Teebeutel 2 g Kräutertee- und Tee-Trockenprodukt enthalten sind, die mit 200 ml Wasser aufgebriht werden. Somit verzehren Kinder langfristig im Durchschnitt etwa 0,06 g Tee pro kg KG und Tag, entsprechend 6 ml Teeaufguss bzw. 0,23 g Tee pro kg KG und Tag als Vielverzehrer (95. Perzentil), was mit 23 ml Teeaufguss zu vergleichen ist. Im Szenario „Kräutertee + Tee nns“ zeigt sich ein durchschnittlicher täglicher Verzehr von 0,03 g Tee pro kg KG und die Vielverzehrer unter den Kindern konsumieren täglich 0,14 g Tee pro kg KG. Zur Berechnung des kurzfristigen Verzehrs (akute Betrachtung) wurde die maximale Verzehrsmenge der Verzehrer aus den Ernährungsprotokollen verwendet. Hierbei zeigt sich, dass Kinder im 95. Perzentil pro Tag 0,76 g pro kg KG „Tee (gesamt)“ bzw. 0,64 g pro kg KG „Kräutertee + Tee nns“ verzehren (siehe Tabelle 5).

Tabelle 5: Langfristiger und kurzfristiger Verzehr von Kräutertee und Tee (gesamt) bei Kindern (0,5 - <5 Jahre) entsprechend der VELS-Studie

	Anteil Verzehrer	Langfristiger Verzehr (alle Befragte)		Kurzfristiger Verzehr (Nur Verzehrer)
		MW (g/kg KG/d)	P 95 (g/kg KG/d)	P 95 (g/kg KG/d)
Tee (gesamt)	56%	0,055	0,231	0,763
Kräutertee + Tee nns	33%	0,026	0,137	0,637

Eine detaillierte Betrachtung einzelner Teesorten lässt sich aufgrund der größtenteils geringen Anzahl an Verzehrer nicht realisieren. Lediglich Fencheltee weist mit 32 % unter den Kräutertees einen höheren Verzehreranteil und auch vergleichsweise deutlich höhere Verzehrsmengen auf. Kamillen- und Pfefferminztee sind im Vergleich mit nur 1 % Verzehrer vertreten und die Verzehrsmengen liegen unterhalb derer von Fencheltee.

Hinsichtlich der Altersgruppen lassen sich keine nennenswerten Unterschiede feststellen.

3.1.5.4 Expositionsschätzung

Für die Expositionsschätzung von PA über den Verzehr von Kräutertee und Tee wurden sowohl für Erwachsene als auch für Kinder die Lebensmittelgruppen „Tee (gesamt)“ sowie „Kräutertee“ anhand verschiedener Verzehrsszenarien unter Berücksichtigung der Berechnungsansätze lower bound, medium bound und upper bound ausgewertet. Die Gehaltsdatengrundlage bilden die PA-Summen aller im oben genannten Sonderforschungsprojekt gemessenen PA in den Teesorten Fenchel-, Kamillen-, Kräuter-, Pfefferminz-, Melissen-, Brennessel- und Baby-Fencheltee aus dem Einzelhandel (siehe Tabelle 3).

Langzeitaufnahme – chronische Belastung

In Tabelle 6 und Tabelle 7 sind die PA-Langzeitaufnahmen für Erwachsene bzw. Kinder für die folgenden Verzehrsszenarien dargestellt.

Szenario 1 (mittlerer Verzehr (MW) und mittlerer Gehalt (MW)) stellt den Durchschnittsverzehrer dar, der mal höher und mal niedriger belastete Teesorten verzehrt (keine Markentreue).

Szenario 2 (hoher Verzehr (95.P.) und mittlerer Gehalt (MW)) beschreibt den Vielverzehrer, der mal höher und mal niedriger belastete Teesorten verzehrt (keine Markentreue).

Szenario 3 (mittlerer Verzehr (MW) und hoher Gehalt (95.P.)) stellt den Durchschnittsverzehrer dar, der ausschließlich höher belastete Teesorten verzehrt.

Szenario 4 (hoher Verzehr (95.P.) und hoher Gehalt (95.P.)) beschreibt einen worst case, bei dem ein Vielverzehrer ausschließlich höher belastete Teesorten verzehrt.

Erwachsene

Aus Tabelle 6 wird deutlich, dass insbesondere Erwachsene, die zu den Vielverzellern zählen, höhere tägliche Aufnahmemengen an PA aufweisen können, wobei Szenario 4 von der worst case Situation ausgeht, nämlich, dass jemand täglich hohe Mengen eines Tees zu sich nimmt, der zudem hoch mit PA belastet ist.

Es ist davon auszugehen, dass die Aufnahme für „Tee (gesamt)“ eher eine Überschätzung darstellt, da hier Verzehrsmengen von anderen Teesorten über Kräutertee hinaus (Grüner und Schwarzer Tee u. a.) berücksichtigt wurden, die eher geringere Gehalte an PA aufweisen.

Tabelle 6: Langfristige Aufnahme von PA ($\mu\text{g}/\text{kg KG}/\text{d}$) über den Verzehr von Kräutertee und Tee (gesamt) bei Erwachsenen für verschiedene Berechnungsansätze und Verzehrsszenarien

Verzehrsszenarien	Berechnungsansatz ¹	PA-Aufnahme ($\mu\text{g}/\text{kg KG}/\text{d}$)	
		Tee (gesamt)	Kräutertee
Szenario 1: Durchschnittsverzehrer ohne Markentreue	LB	0,006	0,002
	MB	0,008	0,003
	UB	0,010	0,003
Szenario 2: Vielverzehrer ohne Markentreue	LB	0,030	0,018
	MB	0,039	0,023
	UB	0,050	0,030
Szenario 3: Durchschnittsverzehrer mit Markentreue hoch belasteter Kräutertees	LB	0,027	0,009
	MB	0,029	0,010
	UB	0,031	0,010
Szenario 4: Vielverzehrer mit Markentreue hoch belasteter Kräutertees (worst case)	LB	0,135	0,081
	MB	0,144	0,086
	UB	0,154	0,092

¹lower/medium/upper bound: vergl. Kapitel 3.1.4 und Tabelle 2.

Als Grundlage für die Expositionsschätzung wurden die Verzehrdaten für die erwachsene Gesamtbevölkerung ohne Berücksichtigung von Alters- oder Geschlechtsunterschieden herangezogen. Es lässt sich jedoch vermuten, dass Männer und die jüngeren Altersgruppen etwas geringere Mengen an PA über den Verzehr von Kräutertee und Tee aufnehmen als die Gesamtbevölkerung.

Kinder (0,5 Monate - <5 Jahre)

Tabelle 7: Langfristige Aufnahme von PA ($\mu\text{g}/\text{kg KG}/\text{d}$) über den Verzehr von Kräutertee und Tee (gesamt) bei Kindern (0,5 Monate - <5 Jahre) für verschiedene Berechnungsansätze und Verzehrsszenarien

Verzehrsszenarien	Berechnungsansatz ¹	PA-Aufnahme ($\mu\text{g}/\text{kg KG}/\text{d}$)	
		Tee (gesamt)	Kräutertee + Tee nns
Szenario 1: Durchschnittsverzehrter ohne Markentreue	LB	0,011	0,005
	MB	0,014	0,007
	UB	0,018	0,009
Szenario 2: Vielverzehrter ohne Markentreue	LB	0,046	0,027
	MB	0,060	0,036
	UB	0,076	0,045
Szenario 3: Durchschnittsverzehrter mit Markentreue hoch belasteter Kräutertees	LB	0,050	0,023
	MB	0,053	0,025
	UB	0,057	0,027
Szenario 4: Vielverzehrter mit Markentreue hoch belasteter Kräutertees (worst case)	LB	0,208	0,124
	MB	0,222	0,132
	UB	0,237	0,141

¹lower/medium/upper bound: vergl. Kapitel 3.1.4 und Tabelle 2.

Auch bei Kindern (0,5 Monate - <5 Jahre) zeigen sich bei langfristigem Verzehr von Kräutertee und Tee (gesamt) z. T nicht unerhebliche Aufnahmemengen an PA. Aufgrund der höheren Verzehrsmengen bezogen auf das Körpergewicht übersteigt die PA-Aufnahme der Kinder die der Erwachsenen. Es bleibt jedoch zu berücksichtigen, dass die Lebensmittelgruppe „Kräutertee“ hier (im Gegensatz zu den Erwachsenen) auch Teemengen enthält, deren Sorte in den Ernährungsprotokollen nicht genau angegeben wurde. Dabei wurde die konservative Annahme getroffen, dass es sich bei allen diesen um Kräutertees handelt.

Kurzzeitaufnahme – akute Belastung

In Tabelle 8 sind die PA-Kurzzeitaufnahmen für Erwachsene und Kinder für zwei Verzehrsszenarien dargestellt. Zum Einen wird der Verzehr von Kräutertee und Tee (gesamt) mit mittleren Gehalten an PA zugrunde gelegt, das heißt, es besteht keine Präferenz für eine bestimmte Teesorte (ohne Markentreue). Zum Anderen wird der Verzehr von Kräutertee und Tee (gesamt) mit hohen Gehalten angenommen, das heißt, es besteht eine Vorliebe für bestimmte Teesorten (mit Markentreue).

Tabelle 8: Kurzfristige Aufnahme von PA ($\mu\text{g}/\text{kg KG}/\text{d}$) über den Verzehr von Kräutertee und Tee bei Erwachsenen und Kindern für verschiedene Berechnungsansätze und Verzehrsszenarien

		PA-Aufnahme ($\mu\text{g}/\text{kg KG}/\text{d}$)			
		Erwachsene		Kinder	
Verzehrsszenarien	Berechnungsansatz ¹	Tee (gesamt)	Kräutertee	Tee (gesamt)	Kräutertee + Tee nns
Ohne Markentreue: 95.P. Verzehr * MW Gehalt	LB	0,060	0,060	0,151	0,126
	MB	0,078	0,078	0,198	0,166
	UB	0,099	0,099	0,252	0,210
Mit Markentreue: 95.P. Verzehr * 95.P.Gehalt (worst case)	LB	0,270	0,270	0,688	0,574
	MB	0,288	0,288	0,733	0,612
	UB	0,308	0,308	0,784	0,655

¹lower/medium/upper bound: vergl. Kapitel 3.1.4 und Tabelle 2.

Ebenso wie bei der langfristigen Aufnahme zeigt sich bei der kurzfristigen Aufnahme von PA eine deutlich höhere Belastung der Kinder im Vergleich zur erwachsenen Bevölkerung (siehe Tabelle 8). Dabei liegen die Aufnahmemengen bei Annahme der Markentreue um das 3- bis 5fache höher als im Szenario ohne Markentreue.

Ein einmaliger Verzehr eines hoch belasteten Kräuterteeaufgusses ist durchaus als realistisch einzuschätzen. Eine Aussage über die Wahrscheinlichkeit des längerfristigen Verzehrs von hoch belastetem Kräutertee und Tee (gesamt) lässt sich auf Basis der vorliegenden Daten aber nur schwer treffen, da die Gehaltsdaten auch innerhalb der gleichen Teesorte teilweise große Schwankungen aufweisen (siehe Tabelle 2). Somit ist zu vermuten, dass auch bei Markentreue der verzehrte Kräutertee und Tee (gesamt) unterschiedlich hohe Gehalte an PA aufweist und damit zu unterschiedlichen Aufnahmemengen führt.

Es bleibt zu berücksichtigen, dass die Gehaltsdaten der einzelnen PA sehr viele Werte unterhalb der Nachweis- und Bestimmungsgrenze aufweisen, weshalb die PA-Summen größtenteils durch die verschiedenen Nachweis- bzw. Bestimmungsgrenzen der 17 PA bestimmt werden. Grundsätzlich liegt die tatsächliche Exposition des Verbrauchers zwischen den Berechnungsansätzen LB und UB, wobei LB eine Unterschätzung und UB eine Überschätzung darstellt.

Aufgrund der geringen Fallzahlen bezüglich der Gehaltsdaten und im Hinblick auf die geringe Anzahl an Verzehrerinnen ist eine detaillierte Betrachtung der Aufnahme von PA über einzelne Teesorten nicht möglich. Die Expositionsschätzung konnte demnach nur auf der Ebene der Gesamtbetrachtung von Kräutertee bzw. Tee (gesamt) erfolgen, womit Unsicherheiten, die zu einer Überschätzung der Aufnahme führen, verbunden sind.

3.1.6 Risikocharakterisierung

Generell orientieren sich Aussagen zur Notwendigkeit der Begrenzung der PA-Aufnahmen durch Lebensmittel zunächst an der Vermeidung des Risikos der Krebsentstehung. Hierbei werden chronische Aufnahmen der relevanten Lebensmittel zugrunde gelegt. Darüber hin-

aus müssen auch mögliche Risiken akuter Toxizität bei z.B. kurzfristig möglichen höheren Expositionen bewertet werden.

Zur Frage, ob PA beim Menschen eine krebserzeugende Wirkung haben, liegen keine aussagekräftigen epidemiologischen Studien oder follow up-Untersuchungen bei Vergiftungsfällen über längere Zeiträume vor. Basierend auf der Gesamtheit experimenteller Befunde zu Metabolismus, Aktivierungsmechanismus, DNA-Adduktbildung, Genotoxizität und Kanzerogenität muss aber in Betracht gezogen werden, dass PA auch beim Menschen kanzerogen wirken können.

Bei einem BfR-Expertengespräch wurde aber grundsätzlich Übereinstimmung erzielt, dass dem in der EU derzeit üblichen MOE-Ansatz zur Risikobewertung von Substanzen mit genotoxischen und kanzerogenen Eigenschaften gegenüber dem bisherigen Verfahren, das sich an dem Bewertungsansatz im Arzneimittelbereich orientierte, der Vorzug zu geben sei (2). Die entsprechende vom britischen COT 2008 vorgeschlagene Bewertung, bei der die PA hinsichtlich ihrer krebserzeugenden Wirkung als Gruppe mit kumulativer Wirkung berücksichtigt werden, wurde als geeignet angesehen. Hierzu wird die für Lasiocarpin abgeleitete BMDL10 (Benchmark Dose Lower Confidence Limit, 10 %) von 0,073 mg/kg KG/Tag als Basis für die MOE-Abschätzung herangezogen. Voraussetzung für diese Bewertung ist, dass für alle nachweisbaren PA eine dem Lasiocarpin äquivalente krebserzeugende Potenz angenommen wird. Das tatsächliche Risiko könnte mit diesem „cumulative assessment group approach“ aber überschätzt werden. Vergleichende Aussagen zur krebserzeugenden Wirkung einzelner PA sind angesichts der lückenhaften Datenlage derzeit nicht möglich. Für Stoffe mit genotoxischen und kanzerogenen Wirkeigenschaften ist innerhalb der EU akzeptiert, dass bei einem MOE von 10000 und mehr die entsprechenden Expositionshöhen als wenig bedenklich betrachtet werden können (2). Dies bedeutet, dass tägliche Dosen von 0,007 µg PA/kg KG hinsichtlich möglicher Krebsrisiken als wenig bedenklich angesehen werden. Das BfR empfiehlt daher, einen MOE von 10000 bei Berücksichtigung der PA-Zufuhr aus allen Quellen nicht zu unterschreiten. Grundsätzlich sollte aber die Gesamtexposition mit PA aus allen Lebensmitteln so niedrig wie möglich gehalten werden.

3.1.6.1 Langzeitaufnahme von PA mit Tees einschließlich Kräutertees

Erwachsene

Aus Tabelle 9 wird deutlich, dass sich bei den Erwachsenen lediglich für die Durchschnittsverzehrer von Kräutertee sowie von Tee (gesamt) (LB), die keine bestimmte Sorte favorisieren, MOE-Werte oberhalb von 10000 ergeben. In allen anderen Berechnungsansätzen resultieren für die erwachsene Bevölkerung und insbesondere für Vielverzehrer mit Markentreue MOE-Werte unterhalb von 10000. Es ist aber davon auszugehen, dass die Aufnahme für Kräutertee und Tee (gesamt) eher eine Überschätzung darstellt, da hier Verzehrsmengen von anderen Teesorten über Kräutertee hinaus berücksichtigt wurden, die eher geringere Gehalte an PA aufweisen.

Tabelle 9: Langfristige Aufnahme von PA ($\mu\text{g}/\text{kg KG}/\text{d}$) über den Verzehr von Kräutertee und Tee bei Erwachsenen für verschiedene Berechnungsansätze und Verzehrsszenarien

Verzehrsszenarien	Berechnungsansatz ¹	PA-Aufnahme ($\mu\text{g}/\text{kg KG}/\text{d}$)		MOE (bezogen auf BMDL10 von 0,073 mg PA/kg KG/Tag)	
		Tee (gesamt)	Kräutertee	Tee (gesamt)	Kräutertee
Szenario 1: Durchschnittsverzehrer ohne Markentreue	LB	0,006	0,002	12268	36803
	MB	0,008	0,003	9362	28085
	UB	0,010	0,003	7373	22118
Szenario 2: Vielverzehrer ohne Markentreue	LB	0,030	0,018	2454	4089
	MB	0,039	0,023	1872	3121
	UB	0,050	0,030	1475	2458
Szenario 3: Durchschnittsverzehrer mit Markentreue hoch belasteter Kräutertees	LB	0,027	0,009	2699	8098
	MB	0,029	0,010	2533	7599
	UB	0,031	0,010	2368	7104
Szenario 4: Vielverzehrer mit Markentreue hoch belasteter Kräutertees (worst case)	LB	0,135	0,081	540	900
	MB	0,144	0,086	507	844
	UB	0,154	0,092	474	789

¹lower/medium/upper bound: vergl. Kapitel 3.1.4 und Tabelle 2.

Kinder (0,5 Monate - <5 Jahre)

Tabelle 10: Langfristige Aufnahme von PA ($\mu\text{g}/\text{kg KG}/\text{d}$) über den Verzehr von Kräutertee und Tee bei Kindern (0,5 Monate - <5 Jahre) für verschiedene Berechnungsansätze und Verzehrsszenarien

Verzehrsszenarien	Berechnungsansatz ¹	PA-Aufnahme ($\mu\text{g}/\text{kg KG}/\text{d}$)		MOE (bezogen auf BMDL10 von 0,073 mg PA/kg KG/Tag)	
		Tee (gesamt)	Kräutertee + Tee nns	Tee (gesamt)	Kräutertee
Szenario 1: Durchschnittsverzehrer ohne Markentreue	LB	0,011	0,005	6691	14155
	MB	0,014	0,007	5106	10802
	UB	0,018	0,009	4021	8507
Szenario 2: Vielverzehrer ohne Markentreue	LB	0,046	0,027	1593	2686
	MB	0,060	0,036	1216	2050
	UB	0,076	0,045	957	1614
Szenario 3: Durchschnittsverzehrer mit Markentreue Markentreue hoch belasteter Kräutertees	LB	0,050	0,023	1472	3114
	MB	0,053	0,025	1382	2923
	UB	0,057	0,027	1292	2732
Szenario 4: Vielverzehrer mit Markentreue hoch belasteter Kräutertees (worst case)	LB	0,208	0,124	351	591
	MB	0,222	0,132	329	555
	UB	0,237	0,141	308	519

¹lower/medium/upper bound: vergl. Kapitel 3.1.4 und Tabelle 2.

Auch bei Kindern (0,5 Monate - <5 Jahre) ergeben sich lediglich für die Durchschnittsverzehrer von Kräutertee (LB, MB), die keine bestimmte Sorte favorisieren, MOE-Werte oberhalb von 10000. Aufgrund der höheren Verzehrsmengen bezogen auf das Körpergewicht übersteigt die PA-Aufnahme der Kinder in den jeweiligen Szenarien die der Erwachsenen. Es

bleibt jedoch zu berücksichtigen, dass die Lebensmittelgruppe „Kräutertee“ hier (im Gegensatz zu den Erwachsenen) auch Teemengen enthält, deren Sorte in den Ernährungsprotokollen nicht genau angegeben wurde. Dabei wurde die konservative Annahme getroffen, dass es sich bei allen diesen um Kräutertees handelt.

Insgesamt sinken also im Szenario 4 (worst case), bei dem Vielverzehrer ausschließlich höher belastete Kräutertees/Tees verzehren, sowohl für Kinder als auch für Erwachsene die MOE-Werte weit unter 10000. Dabei ist davon auszugehen, dass die Aufnahme für „Tee (gesamt)“ eher eine Überschätzung darstellt, da hier Verzehrsmengen von anderen Teesorten über Kräutertee hinaus (Grüner und Schwarzer Tee u. a.) berücksichtigt wurden, die eher geringere Gehalte an PA aufweisen. Die MOE-Werte liegen dabei für die Kräutertee-Aufgüsse in einem Bereich von 900-789 (LB-UB) für Erwachsene (Tabelle 9) und in einem Bereich von 591-519 (LB-UB) für Kinder (Tabelle 10).

Bezüglich der Induktion nicht-neoplastischer Schädigungen wurde ein Wert von $0,1 \mu\text{g PA (Riddelliin)}/\text{kg KG}/\text{Tag}$ abgeleitet, bei dem noch keine nicht-neoplastischen Schäden erwartet werden (39, 53). Dieser Wert wird unter den Annahmen des Szenarios 4 für Kinder und Erwachsene überschritten.

Diese Expositions-Annahme, bei der eine Person über längere Zeit einen täglich hohen Verzehr von einem immer hoch belastetem Tee/Kräuterteeprodukt aufweist, dürfte in der Realität jedoch nur mit geringer Wahrscheinlichkeit eintreffen.

3.1.6.2 Kurzeitaufnahme von PA mit Tees einschließlich Kräutertees

Ebenso wie bei der langfristigen Aufnahme zeigt sich bei der kurzfristigen Aufnahme von PA eine deutlich höhere Belastung der Kinder im Vergleich zur erwachsenen Bevölkerung (siehe Tabelle 8). Ein einmaliger Verzehr eines hoch belasteten Kräuterteeaufgusses ist durchaus als realistisch einzuschätzen.

Für eine dosisorientierte Risikoabschätzung ist der Vergleich mit den unter 3.1.2.3.1 geschilderten Vergiftungsfällen bei Kindern geeignet (40-42). Die geschätzte Aufnahme einer Alkaloidmischung mit Riddelliin und Retrorsin-N-Oxid als Hauptbestandteile hatte bei einem 2 Monate alten Jungen in Dosen von $3 \text{ mg}/\text{kg KG}/\text{Tag}$ ($= 3000 \mu\text{g}/\text{kg KG}/\text{Tag}$) über 4 Tage zum Tode geführt und bei einem 6 Monate alten Mädchen in Dosen von $0,8\text{-}1,7 \text{ mg}/\text{kg KG}/\text{Tag}$ ($= 800\text{-}1700 \mu\text{g}/\text{kg KG}/\text{Tag}$) über 14 Tage nach Aszites und Pleuraerguss nach 2 Monaten eine Leberfibrose verursacht, die nach 6 Monaten in eine Leberzirrhose übergegangen war.

Es ist davon auszugehen, dass die Aufnahme für „Tee (gesamt)“ eher eine Überschätzung darstellt, da hier Verzehrsmengen von anderen Teesorten über Kräutertee hinaus (Grüner und Schwarzer Tee u. a.) berücksichtigt wurden, die eher geringere Gehalte an PA aufweisen. Als „worst case“ wird daher ein hoher Verzehr von Kräutertee mit hohem PA-Gehalt angenommen, wobei ein Kind $0,655 \mu\text{g PA}/\text{kg KG}/\text{Tag}$ mit einem Kräuterteeaufguss konsumieren würde (Tabelle 8). Damit ergibt sich zu der letalen Dosis bei dem Jungen ein Abstand von über Faktor 4580 und der Leberzirrhose-verursachenden Dosis bei dem Mädchen ein Abstand von Faktor 1221 bis 2595. Daher wird bei kurzfristiger Aufnahme (z. B. bei 14tägiger Einnahme) von PA Kräutertee-/Teeaufgüssen in Dosen, die den in Tabelle 7 dargestellten Szenarien entsprechen, eine akute Gesundheitsschädigung für unwahrscheinlich gehalten.

Generell müssen bei den Aufnahmeschätzungen verschiedene Unsicherheiten einbezogen werden. So wurde der Konsum verschiedener Teesorten nicht differenziert. Dies kann zu Über- oder Unterschätzung der Aufnahme einzelner Teesorten führen. Es kann aber angenommen werden, dass sich die konsumierten Mengen von Tee insbesondere bei Hochverzellern nicht wesentlich unterscheiden. Es ist auch unbekannt, ob die hier gemessenen Konzentrationen die tatsächliche Verteilung von PA in Kräutertees auf dem deutschen Markt widerspiegeln.

Die in den Kräutertee- und Teeproben verschiedener Chargen gemessenen Gehalte an 1,2-ungesättigten Pyrrolizidinalkaloiden unterliegen großen qualitativen und quantitativen Schwankungen. Als Ursache muss in Betracht gezogen werden, dass die Pflanzen, von denen die Teedrogen stammen, vergesellschaftet mit unterschiedlichen PA-haltigen Wildkräutern wuchsen und Teile der letzteren die Teedrogen verunreinigten. Dies erscheint plausibel, da in der Vergangenheit bereits die Kontamination von Salat mit PA-haltigen Pflanzenteilen, nämlich Blüten und Blättern des Gemeinen Greiskrautes (*Senecio vulgaris* L.), aufgetreten ist. Eine entsprechende Risikobewertung durch das BfR erfolgte im Jahr 2007 (11). So ist die zunehmende Verbreitung von PA-haltigen *Senecio*-Arten in gemäßigten Klimazonen bekannt (5, 11). Schon damals empfahl das BfR, Kontrollen von Garten- und Ackerbauprodukten auf entsprechende pflanzliche Kontamination. Hierbei sollten aus gegebenem Anlass Salat und Blattgemüse sowie Kräuter im Vordergrund der Überprüfung stehen und es wurde darauf hingewiesen, dass eine entsprechende Schulung des Erntepersonals ggf. geboten erscheint. Es muss in Betracht gezogen werden, dass auch andere PA-haltige Wildkräuter, die nicht zur Gattung *Senecio* gehören, als Verunreinigung von Pflanzen, die zur Produktion von Lebensmitteln genutzt werden, auftreten können.

3.2 Schlussfolgerungen, Handlungsrahmen und Maßnahmen

Basierend auf der Gesamtheit experimenteller Befunde zu Metabolismus, Aktivierungsmechanismus, DNA-Adduktbildung, Genotoxizität und Kanzerogenität muss in Betracht gezogen werden, dass PA auch beim Menschen kanzerogen wirken können. Die bestehende lückenhafte Datenlage erlaubt jedoch keine gesicherten Aussagen dazu, wie sich die einzelnen PA in ihrem kanzerogenen Potenzial und ihrer Toxizität unterscheiden.

Zur Bewertung der längerfristigen Exposition mit PA und daraus resultierender Risiken (insbesondere krebsauslösender Wirkungen) wird die Anwendung von Äquivalenzfaktoren, die auf dem Verhältnis der nach i.p.-Verabreichung der einzelnen PA an Ratten ermittelten LD 50-Werte beruhen, für nicht geeignet gehalten, da sie möglichen Unterschieden einzelner PA in der Toxikokinetik nach oraler Applikation und in der Toxikodynamik nach längerer Exposition nicht Rechnung trägt. Das BfR betrachtet daher PA hinsichtlich ihrer krebserzeugenden Wirkung als Gruppe mit kumulativer Wirkung. Das tatsächliche Risiko könnte mit diesem „cumulative assessment group approach“ aber überschätzt werden. Unter Anwendung des in der EU derzeit üblichen MOE-Ansatz zur Risikobewertung von Substanzen mit genotoxischen und kanzerogenen Wirkungen (2) wird auf die für Lasiocarpin abgeleitete BMDL10 (Benchmark Dose Lower Confidence Limit, 10 %) von 0,073 mg/kg KG/Tag als Basis für die MOE-Abschätzung Bezug genommen. Dabei wird davon ausgegangen, dass bei einem MOE von 10000 und mehr die entsprechenden Expositionshöhen als wenig bedenklich betrachtet werden können (2). Das BfR empfiehlt daher, einen MOE von 10000 bei Berücksichtigung der PA-Zufuhr aus allen Quellen nicht zu unterschreiten. Grundsätzlich sollte aber die Gesamtexposition mit PA aus allen Lebensmitteln so niedrig wie möglich gehalten werden.

Im Hinblick auf die genotoxische und kanzerogene Wirkung der PA werden Anstrengungen für notwendig erachtet, die PA-Gehalte in Kräutertees und Tees so weit wie möglich zu senken, um ein möglicherweise erhöhtes Krebsrisiko für Vielverzellern und insbesondere für

Kinder, bei denen eine höhere Empfindlichkeit für PA-bedingte Effekte in Betracht zu ziehen ist, zu minimieren. Diese Maßnahme wird u. a. auch im Hinblick darauf für erforderlich gehalten, dass eine mögliche zusätzliche PA-Exposition durch andere Lebensmittel, wie Honig hinzukommen kann.

Auch bei den in Einzelfällen unerwartet hohen PA-Gehalten in den Kräutertee- und Teeproben wird auch bei hoher Dosierung der Aufgüsse eine akute Gesundheitsschädigung als unwahrscheinlich angesehen.

Das BfR schließt aus der bestehenden Datenlage, dass für diejenigen Erwachsenen und Kinder, die zu Vielverzellern von Kräutertee-Aufgüssen zählen, insbesondere, wenn sie längerfristig hoch mit PA belastete Produkte konsumieren, möglicherweise erhöhte Risiken einer Gesundheitsschädigung durch Krebserkrankungen bestehen.

Eine Ursachenforschung seitens der Wirtschaftsbeteiligten wird für dringend notwendig gehalten. Hierzu zählt u.a. die botanische Analyse des Pflanzenmaterials, dem das Vorkommen der in den Kräutertee- und Teeproben gefundenen PAs zuzuordnen ist. Außerdem sollte geprüft werden, welche Erfolge bezüglich der Senkung der PA-Gehalte durch Verbesserung von Anbau-, Ernte- und Reinigungsmethoden erzielt werden können.

Um die Vermarktung belasteter Chargen zu vermeiden, wird zum Schutz der Verbraucher empfohlen, dass Kräuterteechargen, die in den Verkehr gebracht werden sollen, vorher auf ihre PA-Gehalte geprüft werden.

Auch von der Lebensmittelüberwachung sollten Kontrollen hinsichtlich der PA-Gehalte von Kräutertee- und Teeproben durchgeführt werden. Des Weiteren wird empfohlen, im Rahmen des Lebensmittel-Monitorings repräsentative Daten zu PA in Kräutertee- und Teeproben zu erheben.

Die ermittelten PA-Gehaltsdaten der nicht repräsentativ und in geringen Stichprobenzahlen untersuchten Teesorten Roibuschtee, Grüner Tee und Schwarzer Tee sind weiter zu verfolgen, gegebenenfalls müssen die entsprechenden Maßnahmen auf diese Teesorten ausgedehnt werden.

Das BfR empfiehlt, das Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte von dem Sachverhalt, der auch für Arzneitees Relevanz besitzen kann, zu unterrichten.

Die vorliegende Bewertung stützt sich auf die derzeit dem BfR verfügbaren Daten. In Hinblick auf den nicht repräsentativen Probenbestand und die erheblichen Wissenslücken ist die Risikobewertung als vorläufig zu betrachten.

Zum gegenwärtigen Zeitpunkt sieht sich das BfR wegen der bestehenden Unsicherheiten nicht in der Lage, einen Grenzwert für PA in Kräutertee/Tee anzugeben. Die vorliegenden Erkenntnisse zu den Ursachen der PA-Belastung sind unzureichend, die Daten über den tatsächlichen Verzehr der einzelnen Sorten sind unvollständig, Eventuelle Variationen zwischen den Chargen eines Produktes konnten noch nicht ausreichend untersucht werden.

Referenzen

1. Leitsätze für Tee, teeähnliche Erzeugnisse, deren Extrakte und Zubereitungen vom 02.12.1998 (BMELV) (BAnz. Nr. 66a vom 09.04.99, GMBI. Nr. 11 S. 228 vom 26.04.99).
2. EFSA Gutachten des Wissenschaftlichen Ausschusses auf Ersuchen der EFSA in Bezug auf einen harmonisierten Ansatz für die Risikobewertung von Substanzen mit genotoxischen und karzinogenen Eigenschaften. *The EFSA Journal* **2005**, 282, 1-30.
3. WHO IPCS International Programme on Chemical Safety. *Environmental Health Criteria 80* **1988**.
4. Mattocks, A. R. Chemistry and Toxicology of Pyrrolizidine Alkaloids. *Academic Press* **1986**.
5. JOINT FAO/WHO Discussion Paper on Pyrrolizidine Alkaloids. *Food Standard Programme* **2011**.
6. Wiedenfeld, H.; Roeder, E.; Bouaul, T.; Edgar, J. Pyrrolizidine Alkaloids - Structure and Toxicity. *V&R Uni Press, Bonn University Press* **2008**.
7. Teuscher und Lindequist *Biogene Gifte*; Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart: 2010.
8. Smith, L. W.; Culvenor, C. C. Plant sources of hepatotoxic pyrrolizidine alkaloids. *J Nat. Prod.* **1981**, 44 (2), 129-152.
9. Hartmann, T.; Witte, L. Chemistry, biology and chemoeology of pyrrolizidine alkaloids. *Alkaloids: chemical and Biological Perspectives* **1995**, 9, 155-233.
10. BfR-Stellungnahme vom Aug. 11, 2011 Risikobewertung von Pyrrolizidinalkaloiden in Honig. <http://www.bfr.bund.de/cm/343/analytik-und-toxizitaet-von-pyrrolizidinalkaloiden.pdf>
11. BfR-Stellungnahme Salatmischung mit Pyrrolizidinalkaloid-haltigem Greiskraut verunreinigt. http://www.bfr.bund.de/cm/343/salatmischung_mit_pyrrolizidinalkaloid_haltige_m_geiskraut_verunreinigt.pdf
12. Teuscher, E.; Melzig, M. F.; Lindequist, U. *Biogene Arzneimittel*; Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart: 2007; Vol. 6.
13. Roeder, E. pyrrolizidinalkaloidhaltige Arzneipflanzen. *Deutsche Apotheker Zeitung* **1992**, 45 (132), 2427-2435.
14. National Institutes of Health *TP Technical Report on the Toxicology and Carcinogenesis studies of Riddelliine in F344/N rats and B6C3F1 mice*; NIH Publication No. 03-4442; May, 03.
15. Pyrrolizidin-Alkaloide, Stufe II Abwehr von Arzneimittelrisiken. Bekanntmachung über die Zulassung und Registrierung von Arzneimitteln. 111 ed.; 1992; p 4805.
16. Danninger, T.; Hagemann, U.; Schmidt, V.; Schönhöfer, P. S. Zur Toxizität Pyrrolizidinalkaloidhaltiger Arzneipflanzen. *Pharmazeutische Zeitung* **1983**, 128 (6), 289-303.
17. Xia, Q.; Chou, M. W.; Kadlubar, F. F.; Chan, P. C.; Fu, P. P. Human liver microsomal metabolism and DNA adduct formation of the tumorigenic pyrrolizidine alkaloid, riddelliine. *Chem Res Toxicol* **2003**, 16 (1), 66-73.
18. Wang, Y. P.; Yan, J.; Fu, P. P.; Chou, M. W. Human liver microsomal reduction of pyrrolizidine alkaloid N-oxides to form the corresponding carcinogenic parent alkaloid. *Toxicol Lett* **2005**, 155 (3), 411-420.
19. Xia, Q.; Chou, M. W.; Edgar, J. A.; Doerge, D. R.; Fu, P. P. Formation of DHP-derived DNA adducts from metabolic activation of the prototype heliotridine-type pyrrolizidine alkaloid, lasiocarpine. *Cancer Lett* **2006**, 231 (1), 138-145.

20. Fu, P. P.; Xia, Q.; Chou, M. W.; Lin, G. Detection, hepatotoxicity, and tumorigenicity of pyrrolizidine alkaloids in Chinese herbal plants and herbal dietary supplements. *Journal of Food and Drug Analysis* **2007**, *15* (4), 400-415.
21. v Borstel, K.; Witte, L.; Hartmann, T. Pyrrolizidine alkaloid patterns in population of *Senecio vulgaris*, *Senecio vernalis* and their hybrids. *Phytochemistry* **1989**, *28* (6), 1635-1638.
22. WHO Evaluation of Carcinogenic Risk of Chemicals to man. *IARC Monographs* **1976**, *10*.
23. WHO Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. *IARC Monographs* **2002**, *82*.
24. NTP Technical Report Toxicity Studies of Riddelliine administered by gavage to F344/N rats and B6C3P1 mice. NIH Publication No. 94-3350, 1992.
25. Kakar, F.; Akbarian, Z.; Leslie, T.; Mustafa, M. L.; Watson, J.; van Egmond, H. P.; Omar, M. F.; Mofleh, J. An outbreak of hepatic veno-occlusive disease in Western afghanistan associated with exposure to wheat flour contaminated with pyrrolizidine alkaloids. *J Toxicol* **2010**, *2010*, 313280.
26. Roeder, E. Wie verbreitet und wie gefährlich sind Pyrrolizidinalkaloide? *Pharmazie in unserer Zeit* **1984**, *13* (2).
27. Pohlenz, J.; Lüthi, J. Auftreten einer Pyrrolizidinalkaloid-Zirrhose beim Rind nach Aufnahme von *Senecio alpinus* (Alpenkreuzkraut). *Wochenzeitschrift* **1981**, *111* (24).
28. Kim, H. Y.; Stermitz, F. R.; Li, J. K.; Coulombe, R. A., Jr. Comparative DNA cross-linking by activated pyrrolizidine alkaloids. *Food Chem Toxicol* **1999**, *37* (6), 619-625.
29. Brown, P. H. Seneciosis or grass staggers of horses in Basutoland. *Bull. epiz. Dis. Afr.* **1956**, *4*, 285.
30. Bull, L. B.; Culvenor, C. C.; Dick, A. T. The pyrrolizidine alkaloids. Their chemistry, pathogenicity and other biological properties. *North Holland Publishing Company* **1968**.
31. Sedlmaier, H.; Dahme, E.; Schiefer, B. Frühveränderungen an der Rattenleber nach Fütterung von *Senecio vulgaris* (Kreuzkraut) und von p-Dimethylaminoazobenzol (Buttergelb). *Zbl. Vet. Med.* **1959**, *6*, 854-871.
32. Poison Information, *senecio vulgaris*. 2013.
33. Altaee, M. Y.; Mahmood, M. H. An outbreak of veno-occlusive disease of the liver in northern Iraq. *Eastern Mediterranean Health Journal* **1998**, *4* (1), 142-148.
34. Huxtable, R. J. Herbal teas and toxins: novel aspects of pyrrolizidine poisoning in the United States. *Perspect Biol Med* **1980**, *24* (1), 1-14.
35. NTP, 1. Bioassay of Lasiocarpine for possible carcinogenicity. NTP Technical Report 39, 1-66.
36. WHO; 1983 IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans; Volume 31.
37. WHO; 1987 IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Volumes 1-42, Supplement 7.
38. Fu, P. P.; Xia, Q. S.; Lin, G.; Chou, M. W. Pyrrolizidine alkaloids - Genotoxicity, metabolism enzymes, metabolic activation, and mechanisms. *Drug Metabolism Reviews* **2004**, *36* (1), 1-55.
39. COT Statement on Pyrrolizidine Alkaloids in Food; 2008. Food Standard Agency.
40. Huxtable, R. J. Herbal Teas and Toxins - Novel Aspects of Pyrrolizidine Poisoning in the United-States. *Perspectives in Biology and Medicine* **1980**, *24* (1), 1-14.
41. Fox, D. W.; Hart, M. C.; Bergeson, P. S.; Jarrett, P. B.; Stillman, A. E.; Huxtable, R. J. Pyrrolizidine (*Senecio*) Intoxication Mimicking Reye Syndrome. *Journal of Pediatrics* **1978**, *93* (6), 980-982.

42. Stillman, A. E.; Huxtable, R.; Consroe, P.; Kohnen, P.; Smith, S. Hepatic Venocclusive Disease Due to Pyrrolizidine (Senecio) Poisoning in Arizona. *Gastroenterology* **1977**, *73* (2), 349-352.
43. Ridker, P. M.; Ohkuma, S.; Mcdermott, W. V.; Trey, C.; Huxtable, R. J. Hepatic Venocclusive Disease Associated with the Consumption of Pyrrolizidine-Containing Dietary-Supplements. *Gastroenterology* **1985**, *88* (4), 1050-1054.
44. Culvenor, C. C. J.; Edgar, J. A.; Smith, L. W.; Kumana, C. R.; Lin, H. J. Heliotropium-Lasiocarpum Fisch and Mey Identified As Cause of Venocclusive Disease Due to A Herbal Tea. *Lancet* **1986**, *1* (8487), 978.
45. Kumana, C. R.; Ng, M.; Lin, H. J.; Ko, W.; Wu, P. C.; Todd, D. Hepatic Venocclusive Disease Due to Toxic Alkaloid in Herbal Tea. *Lancet* **1983**, *2* (8363), 1360-1361.
46. Kumana, C. R.; Ng, M.; Lin, H. J.; Ko, W.; Wu, P. C.; Todd, D. Herbal Tea Induced Hepatic Venocclusive Disease - Quantification of Toxic Alkaloid Exposure in Adults. *Gut* **1985**, *26* (1), 101-104.
47. Datta, D. V.; Khuroo, M. S.; Mattocks, A. R.; Aikat, B. K.; Chhuttani, P. N. Herbal Medicines and Venocclusive Disease in India. *Postgraduate Medical Journal* **1978**, *54* (634), 511-515.
48. Tandon, B. N.; Tandon, R. K.; Tandon, H. D.; Narndranathan, M.; Joshi, Y. K. Epidemic of Venocclusive Disease of Liver in Central India. *Lancet* **1976**, *2* (7980), 271-272.
49. Krishnamurthi, D.; Krishnaswamy, K.; Nagarajan, V.; Krishnamachari, K. A. V. R.; Bhat, R. V. Aetiopathogenesis of endemic ascites in Surguja district of Madhya Pradesh. *Indian Journal of Medical Research* **2013**, *65* (5), 672-678.
50. Mohabbat, O.; Srivastava, R. N.; Younos, M. S.; Merzad, A. A.; Sediq, G. G.; Aram, G. N. Outbreak of Hepatic Venocclusive Disease in Northwestern Afghanistan. *Lancet* **1976**, *2* (7980), 269-271.
51. ANZFA (Australia New Zealand Food Authority); 2001. Pyrrolizidine Alkaloids in Food. A Toxicological Review and Risk Assessment. Technical report series no.2. Canberra, Australia (<http://www.foodstandards.gov.au/srcfiles/TR2.pdf>).
52. DFG – Senatskommission zur Beurteilung der gesundheitlichen Unbedenklichkeit von Lebensmitteln (SKLM), Stellungnahme zu Pyrrolizidinalkaloiden in Honigen, Imkereierzeugnissen und Pollenprodukten, Beschluss vom 8. Nov. 2002 (URL: http://www.dfg.de/aktuelles_presse/reden_stellungnahmen/2003/download/sklm_pa_honig_170403end.pdf ; Stand 24.09.2009).
53. RIVM 2005. Advisory report on pyrrolizidine alkaloids in herb preparations. 2013.
54. EFSA Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the European Commission related to Pyrrolizidine Alkaloids as undesirable substances in Animal Feeds. *The EFSA Journal* **2007**, *447*, 1-51.
55. EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM); Scientific Opinion on Pyrrolizidine alkaloids in food and feed. *The EFSA Journal* **2011**, *9*(11):2004, 134.
56. DIN ISO 32645:1994 Chemical Analysis; Decision limit, Detection limit and determination limit, Estimation in case of repeatability, terms, methods, evaluation. *Deutsches Institut für Normung DIN* **1994**.
57. European Commission Commission Decision 2002/657/EC implementing Council Directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and the interpretation of results. *Official Journal of the European Communities* **2002**, *L221*, 8-36.

58. Stahnke, H.; Kittlaus, S.; Kempe, G.; Alder, L. Reduction of Matrix Effects in Liquid Chromatography-Electrospray Ionization-Mass Spectrometry by Dilution of the Sample Extracts: How Much Dilution is Needed? *Analytical Chemistry* **2012**, *84* (3), 1474-1482.
59. AOAC Guidelines for collaborative study procedures to validate characteristics of a method of analysis. *AOAC International* **2002**.
60. EFSA European Food Safety Authority, 2010. Scientific Report of EFSA. Results of the monitoring of dioxin levels in food and feed. *The EFSA Journal* **2010**, *2010* (8(3):1385), 36.
61. MRI (Max Rubner-Institut) 2008: Nationale Verzehrsstudie II (NVS II), Ergebnisbericht 1, 2 <http://www.was-esse-ich.de/>.
62. Krems, C.; Bauch, A.; Götz, A.; Heuer, T.; Hild, A.; Möseneder, J.; Brombach, C. Methoden der Nationalen Verzehrsstudie II. *Ernährungsumschau* **2006**, *53* (2).
63. Banasiak, U.; Hesecker, H.; Sieke, C.; Sommerfeld, C.; Vohmann, C. Abschätzung der Aufnahme von Pflanzenschutzmittel-Rückständen in der Nahrung mit neuen Verzehrsmengen für Kinder. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforsch. Gesundheitsschutz* **2013**, *48* (1), 84-89.
64. Hesecker, H.; Oeppining, A.; Vohmann, C. Verzehrsstudie zur Ermittlung der Lebensmittelaufnahme von Säuglingen und Kleinkindern für die Abschätzung eines akuten Toxizitätsrisikos durch Rückstände von Pflanzenschutzmitteln (VELS). Forschungsbericht im Auftrag des Bundesministeriums für Verbraucherschutz, Ernährung und Landwirtschaft, Universität Paderborn. 2003.