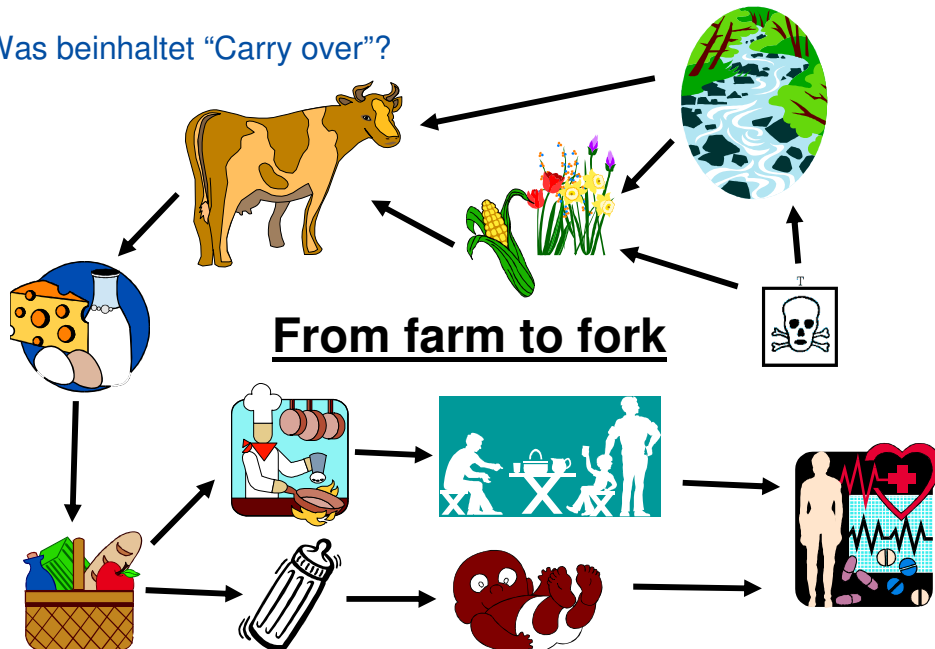


## Der Mensch isst, was das Tier frisst

Hildburg Fry, Markus Spolders

Was beinhaltet "Carry over"?



Quelle: Monique Rennen: Consumer risk assessment of contaminants and residues in animal feed using transfer factors. Carry-over Workshop, BfR Berlin, 13.-14.05.2009

## Anforderungen an die Lebensmittel- und Futtermittelsicherheit

### **Lebensmittel, die nicht sicher sind, dürfen nicht in Verkehr gebracht werden.**

Artikel 14 (1) Verordnung (EG) Nr. 178/2002 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 28. Januar 2002 zur Festlegung der allgemeinen Grundsätze und Anforderungen des Lebensmittelrechts, zur Errichtung der Europäischen Behörde für Lebensmittelsicherheit und zur Festlegung von Verfahren zur Lebensmittelsicherheit; ABl. L 31 v. 1.2.2002, S.10

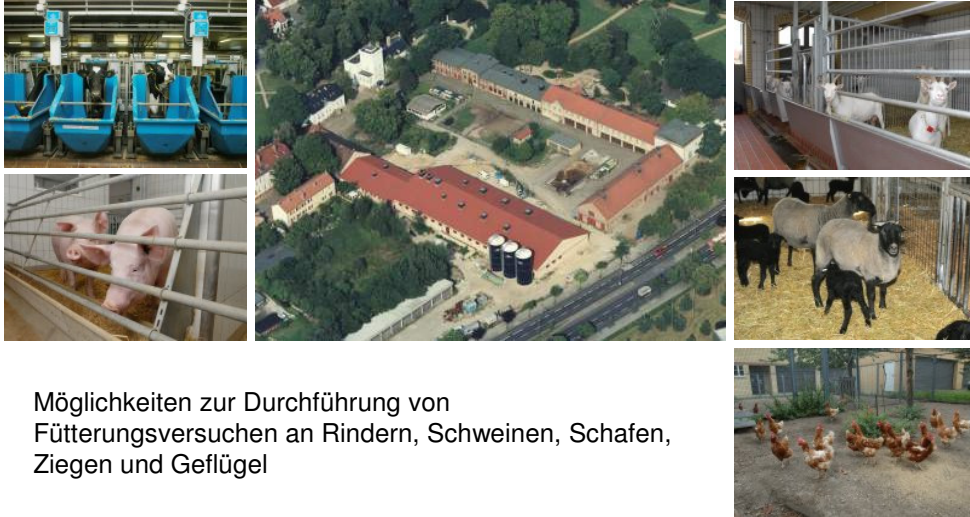
### **Futtermittel dürfen nicht verfüttert werden, wenn davon auszugehen ist, dass sie die Gesundheit von Mensch oder Tier beeinträchtigen oder sich nachteilig auf die tierische Produktion auswirken können.**

Artikel 15 (2) der Verordnung (EG) Nr. 178/2002 zur Festlegung der allgemeinen Grundsätze und Anforderungen des Lebensmittelrechts, zur Errichtung der Europäischen Behörde für Lebensmittelsicherheit und zur Festlegung von Verfahren zur Lebensmittelsicherheit; ABl. L 31 v. 1.2.2002, S.10

## „Carry over“ Versuche am BfR – Von der Idee bis zum Ergebnis

- Planung des Versuches – Abstimmung innerhalb des BfR (z.B. FG 33, 82, 84, 95)
- Antrag eines Tierversuchsvorhabens beim LAGeSo Berlin
- Nach Genehmigung Durchführung des Fütterungsversuches auf dem Versuchsgut des BfR
- Probengewinnung für die spätere Analytik
- Methodenentwicklung und -validierung
- Analyse der gesammelten Proben aus dem Tierversuch
- Zusammenstellung und Auswertung der Daten
- Veröffentlichung der Ergebnisse

## „Carry over“ Versuche am BfR – Versuchsgut Alt-Marienfelde



Möglichkeiten zur Durchführung von Fütterungsversuchen an Rindern, Schweinen, Schafen, Ziegen und Geflügel

## Carry-over Studien am Beispiel von Melamin und Maduramicin

### Tierversuche:

#### Melamin

- 400 mg Melamin/kg Mischfutter (12 Legehennen)
- 100 mg Melamin/kg Mischfutter (6 Legehennen)
- 2,5 mg Melamin/kg Mischfutter (6 Legehennen)

#### Maduramicin

- 50 µg Maduramicin/kg (10 Legehennen)
- 30 µg Maduramicin/kg (10 Legehennen)
- 10 µg Maduramicin/kg (10 Legehennen)



Täglich Sammlung der Eier und Trennung in Eigelb und Eiweiß (Einzelproben)

## Carry-over Studien am Beispiel von Melamin und Maduramicin

### Fragestellungen (Melamin):

- Findet ein Transfer von Melamin aus dem Futtermittel in das Ei statt?

Wenn ja

- Wie hoch ist die Transferrate?
- Ist die Transferrate von der verabreichten Dosis abhängig?
- Findet eine Akkumulation von Melamin im Ei im statt?
- Wie lange kann Melamin im Ei nach Absetzen des kontaminierten Futters noch nachgewiesen werden?
- Gibt es Unterschiede in den Melamin-Gehalten zwischen Eiweiß und Eigelb?
- Welche Relevanz besteht für den gesundheitlichen Verbraucherschutz?

## Carry-over Studien am Beispiel von Melamin und Maduramicin

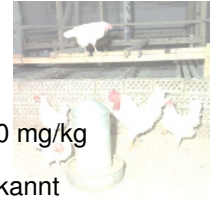
### Fragestellungen (Maduramicin):

- Hintergrund waren Beobachtungen in Slowenien 2009: Überschreitungen der Höchstgehalte für Maduramicin im Ei (2 µg/kg) bei Einhaltung der zulässigen Höchstgehalte im Futtermittel (50 µg/kg)
- Können die Daten aus Slowenien bestätigt werden?
- Wie hoch ist die Transferrate (Futtermittel - Ei)?
- Wie ist die Verteilung des Maduramicins im Eiweiß und Eigelb?
- Wie verlaufen die Maduramicin-Gehalte in den Eiern nach Absetzen des kontaminierten (nicht-pelletierten) Futters?
- Besteht Handlungsbedarf für das Risikomanagement?

## Carry-over Studie Melamin Welche Methoden?

### Anforderungen an die Methoden

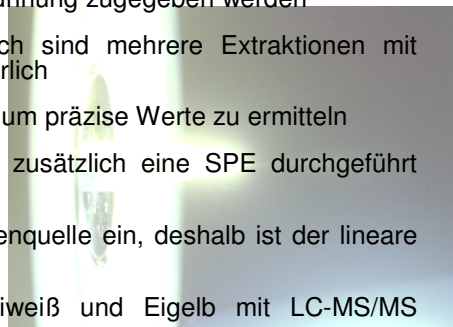
- Methoden für drei unterschiedliche Matrices
- Konzentrationsbereich im Futtermittel von 2,5 mg/kg bis 400 mg/kg
- Im Eiweiß und Eigelb war die Konzentration zunächst unbekannt
- Für die Nachphase in Eiweiß und Eigelb musste eine möglichst niedrige Nachweis- und Bestimmungsgrenze erreicht werden
- Gleichzeitiger Nachweis der Cyanursäure
- Analyse mit GC-MS oder LC-MS/MS



## Carry-over Studie Melamin Die Methoden

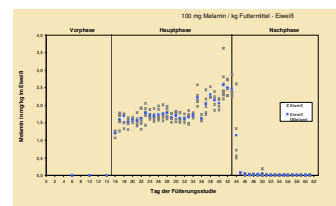
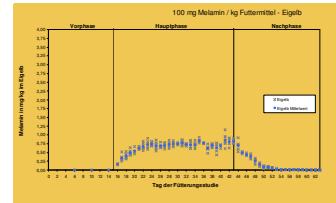
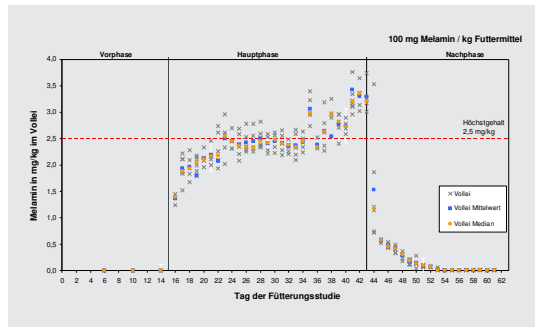
### Ergebnisse

- Die hohen Konzentrationen mussten extrem verdünnt werden und der interne Standard kann erst nach Verdünnung zugegeben werden
- Für den hohen Konzentrationsbereich sind mehrere Extraktionen mit verschiedenen Lösungsmitteln erforderlich
- Eine Matrixkalibrierung ist erforderlich um präzise Werte zu ermitteln
- Bei niedrigen Konzentrationen muss zusätzlich eine SPE durchgeführt werden.
- Bei LC-MS/MS tritt Sättigung der Ionenquelle ein, deshalb ist der lineare Arbeitsbereich eingeschränkt
- Futtermittel werden mit GC-MS, Eiweiß und Eigelb mit LC-MS/MS analysiert



➔ Es mussten insgesamt sieben Methoden entwickelt und validiert werden

## Carry-over Studie Melamin Die Ergebnisse



## Carry-over Studie Melamin Die Ergebnisse

### Ergebnisse

- Schon einen Tag nach Beginn der Verfütterung von melaminhaltigem Mischfutter ist Melamin im Eiweiß nachweisbar; im Eigelb erst nach zwei bis drei Tagen
- Das mittlere Niveau der Konzentrationen im Eiweiß ist höher als das im Eigelb
- Während der Verabreichung schwanken die Melamingehalte um einen Plateauwert
- Bei allen untersuchten Dosierungen wurde eine Transferrate unter 1% ermittelt.
- Bei Verabreichung von 100 mg Melamin / kg Futtermittel schwanken die Werte im Vollei (berechnet) um den Höchstgehalt von 2,5 mg/kg

## Carry-over Studie Maduramicin Die Methoden

### Anforderungen an die Methode

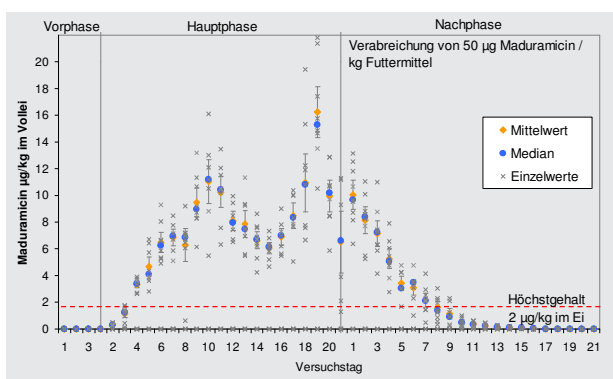
- Maduramicin musste im Bereich des Höchstgehaltes im Ei ( $< 2 \mu\text{g}/\text{kg}$ ) nachgewiesen werden
- Die Methode musste zur Ermittlung der Transferrate auch deutlich unter dem Höchstgehalt noch quantifizieren können



### Ergebnisse

- Die LC-MS/MS Multimethode wurde für die Bestimmung von Maduramicin optimiert
- Bestimmungsgrenze  $< 1 \mu\text{g}/\text{kg}$

## Carry-over Studie Maduramicin Die Ergebnisse



- Bei allen untersuchten Dosierungen wurde eine Transferrate um 10% ermittelt.
- Maduramicin ist in Eiweiß nicht nachweisbar
- Bei Verabreichung des Höchstgehaltes von  $50 \mu\text{g}/\text{kg}$  im Futtermittel wurde der Höchstgehalt von  $2 \mu\text{g}/\text{kg}$  im Ei deutlich überschritten

**Bodi et al. (2012): Carry-over of maduramicin from feed containing cross-contamination levels into eggs of laying hens. J. Agric. Food Chem. Just Accepted Manuscript. DOI: 10.1021/jf3014537**

## Carry-over Studien Fazit und Ausblick

- Die Leistungsparameter der zur Durchführung von Carry-over Studien benötigten Methoden richten sich nach der jeweiligen Fragestellung.
- Valide Methoden sind notwendig um zuverlässige Ergebnisse zu erzielen.
- Carry-over Studien sind für relevante Stoffe in Abhängigkeit von der jeweiligen Fragestellung notwendig!
- Die Daten aus diesen Studien tragen zu einer verbesserten Risikobewertung von unerwünschten Stoffen im Lebensmittel und im Futtermittel bei.

## **VIELEN DANK FÜR IHRE AUFMERKSAMKEIT**

Hildburg Fry  
Markus Spolders

Bundesinstitut für Risikobewertung  
Max-Dohrn-Str. 8-10 • D-10589 Berlin  
Tel. 0 30 - 184 12 - 0 • Fax 0 30 - 184 12 - 47 41  
hildburg.fry@bfr.bund.de, markus.spolders@bfr.bund.de  
www.bfr.bund.de