

Einleitung: Die Sicherheitsbewertung von Lebensmittelkontaktmaterialien (LMK) ist derzeit eine große Herausforderung für die Verpackungs- und Lebensmittelindustrie. Sogenannte NIAS (non intentionally added substances) können aus dem Verpackungsmaterial in das Lebensmittel migrieren und möglicherweise eine Gefahr für die Gesundheit des Konsumenten darstellen. Eine detaillierte chemische Analyse ist oft schwer möglich, da sehr viele unbekannte Substanzen in sehr geringen Konzentrationen vorliegen können. Insbesondere direkt DNA-reaktive Substanzen sind problematisch, da es für diese keine sicheren Expositionslevels gibt und sie wegen ihrer unterschiedlichen chemischen Eigenschaften analytisch kaum vollständig erfassbar sind. Eine alternative Herangehensweise stellt der Einsatz von sogenannten *in vitro* Bioassays dar. Diese Assays erlauben einen effektbasierten Nachweis von biologisch aktiven Substanzen mit lebenden Zellen. Der Ames Test, einer der besterforschten Bioassays, hat sich im Zuge eines initialen Literaturreviews als vielversprechend herausgestellt [1]. Der Test wird weltweit zur Untersuchung von pharmazeutischen Produkten und Chemikalien eingesetzt, und ist in zahlreichen internationalen Guidelines verankert. Im Rahmen des Coin Aufbauprojekts Migratox (FFG Nummer: 3014994) wird dieser Assay eingesetzt und optimiert, um in eine Strategie für die Untersuchung von LMK-Migraten/Extrakten integriert zu werden.

Methoden: Der Ames Test ist ein Verfahren, das auf dem Einsatz von genetisch veränderten Bakterien der Spezies *Salmonella typhimurium* basiert. Diese Bakterien tragen eine Mutation, die die Synthese einer essentiellen Aminosäure (Histidin) verhindert. Damit sind sie, ohne externe Supplementierung von Histidin, nicht lebensfähig. Wenn es allerdings zu einer Rückmutation in dem Genabschnitt kommt, führt dies dazu, dass sie histidinunabhängig wachsen können. Um die Gegenwart von DNA-reaktiven Substanzen zu detektieren, müssen die Bakterien erst mit diesen inkubiert und anschließend auf einem histidinfreien Minimalmedium ausgebracht werden. Wenn es im Vergleich zur Negativkontrolle zu einer erhöhten Anzahl an Revertanten kommt, kann dadurch eine mutagene Aktivität nachgewiesen werden. Beim Standardverfahren werden dafür Agarplatten eingesetzt, auf denen das Koloniewachstum gezählt werden muss. Diese Herangehensweise ist allerdings zeitaufwändig und es werden größere Mengen an Probenvolumen benötigt, was aufgrund der aufwändigen Herstellung von Verpackungsmigraten oft ein limitierender Faktor ist. Deshalb wird an der FH Campus Wien derzeit eine miniaturisierte Version des Ames Tests eingesetzt, der sogenannte Ames MPF Assay. Bei diesem Verfahren kommt ein Indikatormedium zum Einsatz, das bakterielles Wachstum durch einen Farbumschlag von violett zu gelb sichtbar macht. Eine Beispielverdünnungsreihe einer mutagenen Standardsubstanz ist in Abbildung 1 zu sehen.

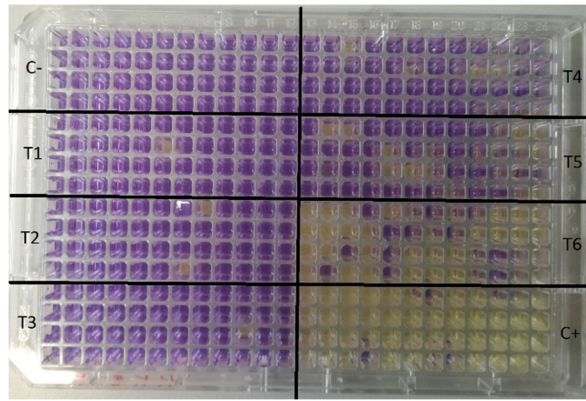


Abbildung 1: Verdünnungsreihe von 2-Nitrofluorene mit aufsteigenden Konzentrationen im Ames MPF Assay. Ein Farbumschlag von violett auf gelb zeigt eine mutagene Aktivität an.

Ergebnisse: Initiale Untersuchungen mit über 90 Verpackungsmigraten haben ergeben, dass diese mehrheitlich keine mutagene Aktivität aufweisen. Bei einzelnen Materialien konnte jedoch bereits ein Effekt nachgewiesen werden (siehe Abbildung 2). Anzumerken ist, dass bei den dargestellten Ergebnissen der positive Effekt höchstwahrscheinlich auf die Druckfarben zurückzuführen ist und nicht auf das eigentliche Verpackungsmaterial.

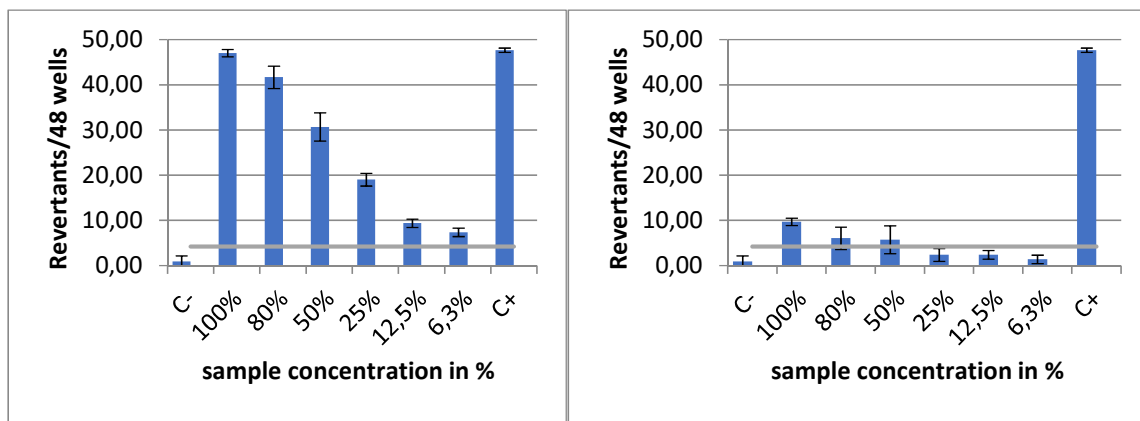


Abbildung 2: Verdünnungsreihen von zwei unterschiedlichen Verpackungsmigratproben, bei denen eine mutagene Aktivität festgestellt wurde. Die vertikalen Balken zeigen die Zahl der Revertanten pro 48 Well an. Die horizontale Linie gibt den Grenzwert an über dem die Probe als positiv zu beurteilen ist.

Conclusio: Zusammenfassend kann angemerkt werden, dass der Ames Test großes Potential hat, eine Schlüsselrolle innerhalb einer Untersuchungsstrategie zur Bewertung von LMK einzunehmen. Im weiteren Verlauf des Migratox Projekts wird daran gearbeitet, den Test für den Einsatz mit Migratproben zu optimieren und seine Sensitivität zu erhöhen.

Quellen:

[1] Rainer B, et al. 2018. Suitability of the Ames test to characterise genotoxicity of food contact material migrate. Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess:1–14. eng. doi:10.1080/19440049.2018.1519259