

## 5 ZUSAMMENFASSUNG

Diskussionen über Aluminium in Verbindung mit verschiedenen Erkrankungen des Menschen (Osteomalazie, Enzephalopathie, Alzheimer's Krankheit) haben dieses Element der dritten Hauptgruppe, insbesondere im medizinischen Bereich, vermehrt in das öffentliche Interesse gerückt. Unter diesem Aspekt wurde eine Bestimmungsmethode für Aluminium in essbaren Anteilen aquatischer Lebewesen, wie Meeresfische, Krebs- und Weichtiere, entwickelt und validiert.

Dazu wurde innerhalb der Probenaufarbeitung mit der Mineralisation der untersuchten Proben durch ein im Mikrowellenfeld aktiviertes Sauerstoffplasma eine bislang wenig eingesetzte Methode zur Entfernung der organischen Bestandteile angewendet und die Aluminiumgehalte mittels ET-GFAAS gemessen.

Die Wiederfindung wurde mit Aluminium aufgestockten Rotbarschfilets bestimmt und ergab für die zwei eigens angesetzten Reihen im Mittel 88 und 98%. Aber auch weitere wichtige Kennzahlen, wie die Linearität (0,94-1,04, Messbereich 0-60  $\mu\text{g Al L}^{-1}$ ), die Präzision (im Mittel RSD 1,2%), die berechnete Nachweisgrenze ( $< 0,005 \text{ mg Al kg}^{-1}$ ) der Methode sowie die sich aus der Nachweisgrenze ergebende Bestimmungsgrenze ( $< 0,015 \text{ mg Al kg}^{-1}$ ) zeigten, dass die entwickelte Methode für die Bestimmung des Aluminiumgehaltes in den untersuchten Proben geeignet war.

Des weiteren konnte durch Anlegen zweier Regelkarten (Rotbarschfilet mit zwei verschiedenen Aluminiumkonzentrationen) gezeigt werden, dass die Methode keine signifikanten Abweichungen und systematischen Fehler durch Kontamination über die gesamte Analysenzeit aufwies.

Die Aluminiumgehalte der untersuchten Filets verschiedener Fischarten mit unterschiedlichen Fettgehalten lagen deutlich unter  $1 \text{ mg Al kg}^{-1}$  Frischsubstanz und demnach innerhalb des umfangreichen Lebensmittelangebotes auf einem niedrigen Niveau. Hinsichtlich unterschiedlicher Fanggebiete wurden lediglich bei den Fischarten signifikant erhöhte Aluminiumgehalte im Filet (bis Faktor 5) bestimmt, die in unmittelbarer Küstennähe nahe einer Aluminiumhütte gefangen wurden. Vermutlich lag aufgrund anthropogener Einflüsse (Aluminiumhütte) ein höherer Aluminiumgehalt im küstennahen Seewasser vor, der den Aluminiumgehalt in den Filets der dort gefangenen Fische zu höheren Werten beeinflusste.

Eine Aluminiumakkumulation im Filet bzw. Muskelgewebe konnte mit zunehmenden Alter und Größe der untersuchten Meerestiere nicht festgestellt werden. Ein Vergleich der Aluminiumgehalte im Filet und in anderen Organen des Kabeljaus aus der Nordsee ergab um den Faktor 4 bis 13 höhere Gehalte in den Organen. Dabei scheint in erster Linie die Aluminiumaufnahme aus dem Meerwasser über die Kiemen und den Blutkreislauf von Bedeutung zu sein, während die Aluminiumaufnahme über die Haut oder die Nahrung anscheinend in den Hintergrund rückt. Grund zu dieser Annahme waren die hohen Aluminiumgehalte in den stark durchbluteten Organen, wie den Kiemen, Herzen und Nieren.

Hohe Aluminiumgehalte von bis zu  $5 \text{ mg Al kg}^{-1}$  Frischsubstanz wurden in den essbaren Anteilen von Krebs- und Weichtieren bestimmt. Gründe für die höheren Aluminiumgehalte im Vergleich zu den Fischen sind wahrscheinlich in der andersartigen Lebensweise und Biologie sowie im abweichenden Nahrungsspektrum dieser maritimen Tiere zu finden.

Ein weiterer wichtiger Aspekt war die Untersuchung der Aluminiumgehalte in Fischfilets, die in Bedarfsgegenständen aus Aluminium zubereitet, hergestellt und gelagert wurden. Mit diesen Untersuchungen sollten erhöhte Aluminiumgehalte erkannt und somit mögliche Rückschlüsse auf eine Aluminiummigration aus der Aluminiumdose bzw. -folie in das entsprechende Lebensmittel gezogen werden können.

Deshalb wurden die Aluminiumgehalte in den essbaren Inhalten zahlreicher langfristig gelagerter Fischdauerkonserven bestimmt. Mit den zur Verfügung stehenden Proben konnte ein möglicher Anstieg des Aluminiumgehaltes bzw. eine Aluminiummigration, in Abhängigkeit eines langen Zeitraumes von unter 1 bis über 30 Jahre, dokumentiert werden. Ein Anstieg des Aluminiumgehaltes, bedingt durch eine Aluminiummigration, war insbesondere in Heringsfilets alter Fischdauerkonserven signifikant. Dabei waren die Aluminiumgehalte älterer Proben, im Vergleich zu den entsprechenden Filets fangfrischer Nordseefische, z.T. mit Faktoren von über 3000 besonders hoch. Die Zunahme der Aluminiumgehalte ist daher ein allmählicher und zeitabhängiger Prozess.

Einen Einfluss auf den Aluminiumgehalt haben aber auch die weiteren in den Konserven befindlichen wertbestimmenden Bestandteile (Sauce, Gemüse, Kräuter, Gewürze) und deren Eigenschaften, wie pH-Wert und Wassergehalt. So können Verbindungen, wie Säuren und Salze, durch Bildung von stabilen Aluminiumkomplexen ein Herauslösen von Aluminium aus den entsprechenden Bedarfsgegenständen in das Lebensmittel begünstigen.

Als weitere Einflussparameter auf den Aluminiumgehalt sind zusätzlich die Qualität des Verpackungsmaterials, die Dosenlackierung sowie Herstellungs- und Lagerbedingungen zu nennen.

Die Aluminiumgehalte von Saucen aus Heringskonserven neueren Herstellungsdatums (<2 Jahre) waren teilweise deutlich höher als die Aluminiumgehalte der entsprechenden Filets, was aufgrund der pflanzlichen Zutaten zu erwarten war. Um so erstaunlicher war es, dass sich die Verhältnisse in den Aluminiumgehalten bei den älteren Fischdauerkonserven umkehrten. Hervorgerufen wurde diese Umkehr wahrscheinlich durch eine bevorzugte Migration der Aluminiumionen aus der Sauce in die Heringsfilets. Eine stärkere Komplexierung oder irreversible Einbindung der Aluminiumionen in die Filetproteine könnte hierfür verantwortlich gewesen sein.

Die Aluminiumgehalte der Filets aus handelsüblichen Fischdauerkonserven mit einem vom Hersteller angegebenen MHD von 4 Jahren waren im Vergleich zu den entsprechenden Filets fangfrischer Nordseefische zwar erhöht, aber im wesentlichen als niedrig einzustufen, wobei die Zunahme des Aluminiumgehaltes in erster Linie aus Zutaten der die Filets umgebenden Saucen resultierte und/oder herstellungsbedingt war.

Um die Erhöhung des Aluminiumgehaltes über die Lagerdauer vom Herstellungstag an bis zu 2½ Jahren unter genau bekannten Bedingungen zu dokumentieren, wurden zwei Typen von Heringsdauerkonserven, „Heringsfilets in Tomatencreme“ und „Heringsfilets in Currysauce“ sowie in Aluminiumdosen abgefüllte und sterilisierte Tomatencreme bzw. Currysauce in regelmäßigen Abständen auf ihren Aluminiumgehalt untersucht. Zu Vergleichszwecken wurde zudem der Aluminiumgehalt von den unverpackten Ausgangsmaterialien, den rohen und gedämpften Heringsfilets, und von der Tomatencreme bzw. Currysauce, bestimmt.

Während der Anstieg der Aluminiumgehalte in den Heringsfilets aus der Tomatencreme (+109%) und Currysauce (+321%) über die 2½ jährige Lagerdauer kontinuierlich und signifikant war, betrug er in der entsprechenden und von den Filets separierten Tomatencreme lediglich 13% und in der Currysauce nur 14%.

Ein deutlicher Anstieg des Aluminiumgehaltes war auch in der Tomatencreme (+65%) und in der Currysauce (+187%), die ohne Filets in Aluminiumdosen hergestellt und gelagert wurden, festzustellen.

Ein Vergleich der Aluminiumgehalte der Ausgangsmaterialien, den gedämpften Heringsfilets, der Tomatencreme und der Currysauce, mit den entsprechenden Doseninhalten zeigte nach einwöchiger Lagerung einen deutlich erhöhten Aluminiumgehalt in den Heringsfilets (aus Tomatencreme +1050%, aus Currysauce +383%) und moderat erhöhte Aluminiumgehalte in einzeln verpackter Tomatencreme (+30%) und Currysauce (+7%). Im Gegensatz dazu waren die Aluminiumgehalte in aus Heringskonserven separierter Tomatencreme (-31%) und Currysauce (-31%) niedriger.

Der Vergleich der Aluminiumgehalte in der Tomatencreme und der Currysauce aus Heringskonserven mit denen, die ohne Heringsfilets hergestellt und gelagert wurden, machte deutlich, dass die Heringsfilets einen Einfluss auf die Aluminiumgehalte in der Tomatencreme bzw. Currysauce ausübten und bestätigte die Vermutung, dass Aluminiumionen aus der Creme oder Sauce in die Filets migrierten.

Ein Vergleich der Aluminiumgehalte der untersuchten Heringskonserven (bis 0,5 mg 200g<sup>-1</sup> Doseninhalt) mit der von der WHO 1989 empfohlenen und tolerierbaren Aluminiumaufnahme von 1 mg pro kg Körpergewicht und Tag machte deutlich, dass die Aluminiumgehalte in gelagerten Heringsdauerkonserven diesem Wert nur zu einem geringen Teil entsprachen.

Aluminiumfolie war neben Aluminiumdosen ein weiterer Bedarfsgegenstand zur Untersuchung über die Aluminiummigration ins Lebensmittel. Hierzu wurden die Aluminiumgehalte von in Aluminiumfolie gebackenen und gegrillten Filets bestimmt und mit den der Filets der entsprechenden Nordseefische verglichen. Ein Anstieg der Aluminiumgehalte in den in Aluminiumfolie zubereiteten Filets war signifikant, wobei er bei den gebackenen Seelachsfilets (*Pollachius virens*) ohne Zutaten mit Faktor 2 am niedrigsten und bei den gegrillten Makrelenfilets (*Scomber scombrus*) mit Zutaten (Zwiebelringe, Gewürzmischung) mit Faktor 68 am höchsten war.

Die Aluminiumgehalte der gebackenen Filets, die mit Essig und Kochsalz gebacken wurden, waren höher als die der gebackenen Filets ohne Zutaten. In diesem Fall war wahrscheinlich der niedrigere pH-Wert (Essigzugabe) für die höheren Aluminiumgehalte in den gebackenen Filets mit Zutaten verantwortlich. Insgesamt gesehen waren die Aluminiumgehalte in den gegrillten Filets im Vergleich zu den gebackenen Filets signifikant höher. In diesem Fall war wohl die höhere Zubereitungstemperatur sowie der sehr hohe Aluminiumgehalt der Würzmischung (63,5 mg Al kg<sup>-1</sup>) für die höheren Aluminiumgehalte in den gegrillten Filets verantwortlich.

In Anbetracht der Ergebnisse kann davon ausgegangen werden, dass während der Zubereitung von in Aluminiumfolie eingewickelten Lebensmitteln Aluminium aus der Folie in das Lebensmittel migriert, wobei die Intensität der Migration von verschiedenen Faktoren abhängt, wie

- der Zusammensetzung des jeweiligen Lebensmittels und anderer Zutaten, insbesondere von Zutaten mit hohen Aluminiumgehalten
- den Zubereitungsbedingungen (Dauer, Temperatur)
- dem pH-Wert des Lebensmittels bzw. des Gerichtes
- der Anwesenheit von anderen Substanzen, wie organischen Säuren oder Salzen, die durch Komplexeaktionen eine Lösung von Aluminium aus dem Bedarfsgegenstand in das Lebensmittel begünstigen können

Obwohl die Aluminiumgehalte mit bis zu Faktor 68 im Vergleich zu den rohen Filets erhöht waren, bestehen dennoch nach gegenwärtigen medizinischen Kenntnissen durch Verzehr derartig zubereiteter Filets für den Verbraucher keine gesundheitlichen Risiken. Anhand eines Rechenbeispiels soll diese Aussage nochmals verdeutlicht werden. Die tolerierbare, tägliche Aufnahmemenge für eine 70 kg schwere Person beträgt für Aluminium gemäß World Health Organisation (1989) 70 mg. Der Verzehr eines in Aluminiumfolie gegrillten und gewürzten Makrelenfilets (200 g) würde einer Aluminiumaufnahme von 1,5 mg und demzufolge lediglich 2,1% dem WHO-Wert entsprechen.

Die in der Literatur angegebene durchschnittliche Aluminiumaufnahme für Menschen beträgt im Normalfall zwischen 2 und 10 mg Aluminium pro Tag. Die von der WHO (1989) empfohlene und tolerierbare Aluminiumaufnahme ist mit 1 mg Al pro kg Körpergewicht und Tag angegeben. In Anbetracht aller Ergebnisse kann davon ausgegangen werden, dass durch den Verzehr der untersuchten Proben (essbare Anteile von Meeresfischen, Krebs- und Weichtieren, Inhalte von kommerziellen Fischdauerkonserven, in Aluminiumfolie zubereitete Fischfilets) keinerlei Gesundheitsrisiko und ernährungstoxikologische Gefährdungen unter normalen Verzehrgeohnheiten bestehen.

Abgesehen von den Aluminiumgehalten der Doseninhalte älterer Heringskonserven (> 10 Jahre) entsprachen die Aluminiumgehalte der in dieser Arbeit untersuchten Proben den bereits erwähnten Werten (durchschnittliche Aluminiumaufnahme, WHO-Wert 1989) lediglich zu einem Bruchteil, zudem wird Aluminium über den humanen Verdauungstrakt für gewöhnlich kaum absorbiert und über Urin und Faeces fast vollständig (97-99%) ausgeschieden.

## 6 SUMMARY

Discussions about the relation of aluminium with a few human disorders (Osteomalacia, Encephalopathy, Alzheimer's disease) have increased the public interest in aluminium, especially in medicine area. Seen from this angle an analytical method for the determination of aluminium in fish tissues and muscle of molluscan and crustacean shellfish was developed and validated.

For that purpose a new and not much known pre-treatment method of sample mineralisation in a microwave-activated oxygen plasma under vacuum without the addition of chemicals was used and the aluminium contents was measured by ET-GFAAS.

The recovery rate (means 88% and 98%) with spiked ocean perch fillets, the linearity (0,94-1,04, measurement area 0-60  $\mu\text{g Al L}^{-1}$ ) of the calibration line as well as of different standard addition lines, the precision (mean RSD 1,2%), the calculated detection limit ( $< 0,005 \text{ mg Al kg}^{-1}$ ) of the whole aluminium determination, and the determination limit ( $< 0,015 \text{ mg Al kg}^{-1}$ ) calculated as 3 times the detection limit indicated that the method for the determination of aluminium for the investigated samples was qualified. Additionally two quality-control-cards (ocean perch fillets with different aluminium concentrations) indicated that the method showed no significant fluctuation as well as systematic errors by contamination over the entire time of the experiments.

The aluminium concentrations of all fillets of lean and fatty fish species investigated were lower than 1  $\text{mg Al kg}^{-1}$  wet weight and within the offered average food range on a low level. Regarding the different catch areas aluminium contents in fillets of fish species, who were caught in coastal waters and near that aluminium smelting plant, were significant higher (up to factor 5). It can be assumed that the anthropological influences (aluminium smelting plant) resulted in higher aluminium contents in coastal sea water and in fillets of fish caught from that area.

An aluminium accumulation in fillets of saithe, haddock and cod with increasing age could not be found. A comparison of aluminium contents between fillets and different organs of North Sea cod showed higher aluminium concentrations in organs ranging from a factor of 4 to a factor of 13. It seems that the main aluminium intake occurs via ambient water and gills as well as blood circulation, whereas the aluminium intake over the mucous membrane or food does not play a significant role in this connection. Indications for this were the high aluminium contents of the organs with strong blood circulation as gills, hearts and kidneys.

In the edible part of crustacean and molluscan shellfish higher aluminium concentrations (up to 5 mg Al kg<sup>-1</sup> wet weight) could be detected. The different feed spectrum and metabolism of these species seems to be responsible for the higher aluminium accumulation in marine crustacean and molluscan shellfish.

Another important aspect was the investigation of aluminium contents in fish fillets, which were prepared, produced and stored in consumer goods of aluminium.

Therefore the aluminium contents of different canned fish products stored for prolonged time periods were determined. The aluminium determination of the samples documented the aluminium migration from can material into the food in good correlation with time from <1 until >30 years. The increase of aluminium contents, especially in herring fillets of continuously stored canned fishery products, were significant. In comparison with corresponding fillets of fresh fish from the North Sea the aluminium contents of old samples were very high and increased maximal to a factor of 3000.

The aluminium increase was dependent on the duration of storage time. Additionally the aluminium migration was influenced from the composition of other ingredients and their characteristics like pH-value and water content, the quality of cans, the lacquer of cans, respectively, the conditions of manufacture and storage and the presence of compounds like acids and salts, because the formation of stable aluminium complexes results in dissolution of the complexed metal.

The aluminium contents of different sauces of freshly canned fishery products (< 2 years) were higher than the contents of fillets because of the vegetable ingredients. In medium and long time period stored canned fish products (> 5 years) the ratio of the aluminium contents between sauces and fillets were reversed. Probably the stronger affinity of the aluminium ion to the fillet proteins was the main reason for this process.

The aluminium contents of commercially canned fish fillets with a guaranteed shelf life of 4 years were also higher than the corresponding fillets of fresh fish. But in comparison with the contents of "historic" canned fish samples the aluminium levels were low and resulted from the ingredients of the sauces and/or the conditions of manufacture.

In a further investigation two types of canned herring fillets, one in tomato cream the other in curry sauce were investigated for the aluminium contents after separation into herring fillets and the corresponding cream and sauce.

Furthermore the aluminium contents of canned tomato cream and curry sauce sterilised without herring fillets and for comparison purpose the aluminium contents of raw and steamed herring fillets and of tomato cream and curry sauce prior to canning were determined too.

During the storage period of 2½ years the aluminium contents of canned herring fillets in tomato cream as well as in curry sauce increased continuously and significantly. The aluminium contents of the corresponding tomato cream and curry sauce increased too. In contrast to the aluminium increase in canned herring fillets in tomato cream (109%) and in canned herring fillets in curry sauce (321%), the aluminium increase in the separated tomato cream was only 13% and in the separated curry sauce 14%. The aluminium increase in the canned tomato cream (65%) and canned curry sauce (187%), which were produced and stored without herring fillets in aluminium cans, increased during prolonged storage continuously and significantly too.

In comparison with the raw materials (steamed herring fillets, tomato cream, curry sauce) the aluminium contents of canned herring fillets (in tomato cream +1050%, in curry sauce +383%), which were stored one week, were very high and the aluminium contents in canned tomato cream (+30%) and curry sauce (+7%), which were produced and stored one week without herring fillets, were moderately.

But the aluminium contents in the canned tomato cream (-31%) and curry sauce (-31%) in herring cans were lower than the aluminium content of the tomato cream and curry sauce prior to canning, respectively. It seems that the first significant process which occurred was the aluminium migration from the corresponding cream or sauce into the herring fillets. Probably the sterilisation and the varied dry matter of the herring fillets, tomato cream and curry sauce and the stronger binding of the aluminium ion to the fillet proteins promoted this process.

With a view of all results it can also be concluded that during prolonged storage time some aluminium migrated from the can wall into the food and that the aluminium contents of canned food increased, parallel with increasing storage time. As mentioned above, beside the storage time the aluminium increase in canned food is dependent on the pH-value and the water and fat content, respectively.

Beside aluminium cans aluminium foil was the another object of these investigations about the aluminium migration into food. Therefore, the aluminium contents of fish fillets in aluminium foil baked and grilled were determined and compared with the raw fillets of the corresponding fish caught in the North Sea. All aluminium concentrations of fillets baked and grilled in aluminium foil clearly increased.



The aluminium contents increased by factors ranging from 2 (baked fillets of saithe) to 68 (grilled fillets of mackerel with onion rings and mixed spices).

The aluminium contents of baked fillets with addition of vinegar and sodium chloride were higher than the aluminium contents of baked fillets without ingredients. Probably the lower pH-value (addition of vinegar) was responsible for the higher aluminium contents in the baked fillets with ingredients. Generally the aluminium contents of grilled fillets were higher compared with those of baked fillets. In the former case the higher temperature of preparation when grilling fillets is likely to be responsible for this as well as the very high aluminium content of mixed spice (63,5 mg Al kg<sup>-1</sup>), which may be taken up in part by the grilled fillets.

Considering all results it can be concluded that during the preparation of food wrapped in aluminium foil some aluminium migrated from the foil into the food. Probably the aluminium migration depends on several factors:

- the chemical composition of the raw food material and the other ingredients
- the conditions of preparation: duration and temperature of heating
- the pH-value of the food or dishes and
- the presence of any other substances (such as organic acids and salt), as complexing reactions result in dissolution of the complexed aluminium

Although the contents in grilled fillets were clearly higher than the corresponding raw fillets (partly up to factor 68), regarding the present state of knowledge through consumption of such fillets there exists no evident risk to the health of the consumer from eating meals prepared in aluminium foil. A calculation should be illustrate this statement. According to the World Health Organisation (1989) the tolerable daily intake of a 70 kg heavy person is 70 mg aluminium. The consumption of a 200 g dish of mackerel fillet with onion rings and mixed spices in aluminium foil grilled corresponded to an aluminium intake of 1,5 mg aluminium and only 2,1% the WHO-value consequently.

The average aluminium intake by humans is according to literature normally between 2 and 10 mg Al per day. The World Health Organisation (1989) suggested a provisional tolerable daily intake of 1 mg Al kg<sup>-1</sup> bodyweight per day. Considering all results, it can be concluded that the consumption of the investigated samples (edible parts of fish, crustacean and molluscan shellfish, the contents of commercially fishery products as herring cans, in aluminium foil prepared fish fillets) forms no health risk for humans under normally habitual consumption. Apart from the aluminium levels in the contents of old herring cans (> 10 years) the determined aluminium contents of the investigated samples represents only a fraction of the above mentioned values (average aluminium intake, WHO-value 1989), taking into account that aluminium excretion by humans is usually almost complete (97-99%) by urine and faeces.