Über das Vorkommen von Chlorphenolen in Käserinde und deren Herkunft - eine Übersicht*

J. O. BOSSET[1], R. SIEBER[1], F. SCHMUTZ[2]

[1] Eidg. Forschungsanstalt für Milchwirtschaft, 3097 Liebefeld-Bern
[2] Schweizerische Käseunion, 3001 Bern

Eingereicht am 21. März 1994

Die vorliegende Arbeit versucht die Situation auf dem Gebiete der Chlorphenolkontamination in Käse abzuklären. Von 70 sensorisch beanstandeten Käsen wurde die Rinde auf den Gehalt an Chlorphenolen analytisch untersucht. Es wurden darin Penta- (19 Fälle) und Tetrachlorphenol (10) sowie 2,4,6- (16) und 2,4,5-Trichlorphenole (33) nachgewiesen. Diese beiden Trichlorphenole treten meistens nicht gleichzeitig auf. 2,4,5-Trichlorphenol wurde bei 7 Käsen nur in 3 Fällen gleichzeitig in der Rinde und im Zentrum gefunden. Das Vorkommen von 2,4,6-Trichlorphenol ist auf die Reaktion des in gewissen Reinigungsmitteln vorhandenen freien Chlors mit phenolhaltigen Substanzen der Käseumgebung (Holz) zurückzuführen. 2,4,5-Trichlorphenol muss hingegen als bereits in der Milch vorhandene Umweltverunreinigung betrachtet werden. Aufgrund ihrer pH-abhängigen Löslichkeit im Wasser und im Milchfett gehen diese Trichlorphenole direkt (carry over) oder dauernd bei der Lagerung in den Käse über. Diese Problematik wird infolge einer späteren mikrobiologischen Umwandlung von Chlorphenolen in -anisole erschwert.

1. Einleitung

Im Verlaufe der letzten Jahre sind in der Schweiz mehrere Fälle aufgetreten, in denen Käse einen Fremdgeschmack in der Rinde aufwiesen. In einem Falle wurde dabei der Geschmacksfehler „chemisch" erwähnt. Dabei liessen sich in der Käserinde wie auch in Luft- und Bodenproben des Reifungskellers mehrere Harzbestandteile wie Acrosolv® und Benzolderivate identifizieren. Als Ursache müssen flüchtige Substanzen in Betracht gezogen, die bei eingeschalteter Bodenheizung aus dem verwendeten Epoxiharzbodenbelag entwichen und sich in der Käserinde anreicherten (7).

In einem anderen Falle musste in Schmelzkäse der Aromafehler „phenolisch" festgestellt werden. Dieser intensive Aromafehler konnte auf hohe Konzentrationen an Trichlorphenolen (TCP), im speziellen an 2,4,6-TCP, in der Käserinde als Ausgangsmaterial zurückgeführt werden. Der Mechanismus für dessen Bildung wurde inzwischen eruiert. Bei der Verwendung von Javelwasser oder P_3-142 als Reinigungs- und Desinfektionsmittel von Käsebankungen reagiert aktives Chlor schon in niedrigen Konzentrationen und bei tiefen Temperaturen mit Phenol aus dem Lignin des Holzes spezifisch zum 2,4,6-TCP. Diese Verbindung, die nachträglich mit der GC/MS-Analyse bestätigt wurde, diffundierte während mehreren Monaten aus dem Holz in den reifenden Käse und hatte sich dort angereichert (Bosset et al., persönliche Mitteilung).

Über das Vorkommen von Chlorphenolen in Lebensmitteln (Pentachlorphenol ausgenommen, siehe dazu 25), insbesondere in Käse, stehen nur wenige Informationen zur Verfügung (26). Kontaminationen mit geringen Konzentrationen sind meistens vorhanden als Resultat des Kontaktes der Lebensmittel mit Behältern, dessen Holz behandelt wurde, oder als Resultat von Herbizidanwendungen. Halogenierte Phenole spielen als „Off-flavour" in Lebensmitteln eine Rolle (22). In Karotten, die mit Natriumhypochlorit behandelt wurden, konnten von Fukaya et al. (12) 2,6-Dichlorphenol, in Melonen von Sanchez Saez et al. (21) 4-Brom-2-chlorphenol und in Meeresfischen Bromphenole (8) als „Off-flavour" nachgewiesen werden. In 45 Milchproben aus Süd-Ontario wurde mit den damaligen (d.h. wahrscheinlich weniger empfindlichen) Analysenmethoden kein 2,4,5- und 2,4,6-TCP, 2,3,4,6-Tetrachlorphenol und Pentachlorphenol gefunden (11). Daneben wurde auch schon über die Nachweisgrenzen von Chlorphenolen in Milch berichtet, die als Folge des Einsatzes von Desinfektionsmitteln in die Milch gelangten (13). Über das Vorkommen von Trichlorphenolen in Käsen haben Maarse et al. (15) berichtet und Barlow et al. (3, 4) über die Entwicklung einer HPLC-Methode zum Nachweis von Chlorphenolen in Käse sowie in Lebensmitteln und Verpackungsmaterial. In Cheddarkäse wurde ein als medizinisch bezeichneter Aromafehler gefunden, der auf die Verwendung eines chlorphenolhaltigen Klebstoffs zurückgeführt wurde (1).

Über das „Carry over" von Chlorphenolen in Milch liegen Angaben von Bjerke et al. (6) vor. Diese haben eine Untersuchung zum „Carry over" von vier verschiedenen chlorphenolhaltigen Herbiziden in Milch und Rahm durchgeführt. Sie verabreichten dabei mit dem Futter verschiedene Phenoxy-Herbizide: 2,4-Dichlorphenoxy- oder 2,4,5-Trichlorphenoxyessigsäure, 2-(2,4,5-Trichlorphenoxy)propionsäure oder 2-Methyl-4-chlorphenoxyessigsäure in 6 unterschiedlichen Konzentrationen (0, 10, 30, 100, 300, 1000 mg/kg) an drei Kühe. Nach der Verabreichung von 2,4,5-Trichlorphenoxyessigsäure stellten sie in der Milch folgende Konzentrationen fest, dabei betrug die instrumentelle Nachweisgrenze dieser Phenole etwa 50 µg/l Milch (Tabelle 1).

Ziel dieser Arbeit war eine Situationsanalyse über das Auftreten des in der Rinde von Emmentalerkäsen festgestellten Aromafehlers durchzuführen sowie dessen Herkunft aufzuklären. Diese Arbeit stützt sich teilweise auf eine Literaturrecherche ab und wurde mit einigen praktischen Untersuchungen ergänzt.

2. Material und Methoden

Anzahl und Herkunft der Proben

Seit 1991 liess die Schweizerische Käseunion AG sensorisch beanstandete Käseproben auf 2,4,6- und 2,4,5-TCP, 2,3,4,6-Tetrachlorphenol und Pentachlorphenol untersuchen (bei 70 Käsen die Rinde und bei 7 Käsen sowohl die

* Prof. Dr. Eric Plattner (EPF Lausanne) zum 65. Geburtstag gewidmet.

In dieser Ausgabe

J. O. BOSSET, R. SIEBER und F. SCHMUTZ
Über das Vorkommen von Chlorphenolen in Käserinde und deren Herkunft – eine Übersicht
Seiten 47 – 52

H.P. BACHMANN und Z. PUHAN
Verhalten von potentiell humanpathogenen Bakterien in Hart- und Halbhartkäse aus Rohmilch
Seiten 54 – 61

FIL-Experten-Berichte
Seiten 62–63

Rinde wie auch das Zentrum). Dabei wurde von der Rinde eine ungefähr 1 mm dicke Schicht gewonnen.
Im März und April 1993 wurde von drei Käsereien Rahm (Gemisch von Käse- und Sirtenrahm 1:1) und im Mai 1993 Kessimilch (in lyophilisierter Form zur Untersuchung gegeben) erhoben und auf obige Chlorphenole untersucht.

Analysenmethode
Sämtliche Proben wurden durch ein privates Labor auf Chlorphenole untersucht. Die Bestimmungsmethode* beruht auf einer Wasserdampfextraktion unter sauren Bedingungen, einer Aufkonzentrierung im alkalischen Milieu und einer Umwandlung der Chlorphenole in die entsprechenden flüchtigen Anisole, die dann mit GC/ECD bestimmt werden.

3. Resultate

Käse
Unter sämtlichen untersuchten Käseproben wurden zwei Proben mit Fremdgeschmack in der Käserinde gefunden, die hohe Konzentrationen an Pentachlorphenol, 2,3,4,6-Tetrachlorphenol, 2,4,6- und 2,4,5-TCP (zwischen 140 und 490 µg/kg) aufwiesen. Daneben wurde Pentachlorphenol in einer einzigen Probe in einer Konzentration von 19 µg/kg und in 16 Fällen in Konzentrationen unterhalb von 3 µg/kg gefunden. Die Fremd- und Inhaltsstoffverordnung (1990) legt für Pentachlorphenol in Milch einen Grenzwert von 50 µg/kg (inkl. TCP aus Verunreinigung von Pentachlorphenol) fest. Umgerechnet auf Käse könnte dies einem Grenzwert von etwa 500 µg/kg entsprechen, sodass also die in diesen 17 Käseproben festgestellten Konzentrationen an Pentachlorphenol in Käse unter diesem berechneten Grenzwert liegen. Neben den bereits erwähnten 2 Proben (über 300 µg/kg) wiesen 4 Proben 2,3,4,6-Tetrachlorphenol in Konzentrationen von 24 bis 55 µg/kg auf, bei weiteren 6 Proben waren es Konzentrationen von unter 10 µg/kg.
Auch die Trichlorphenole wurden nicht in sämtlichen Proben von Käserinde nachgewiesen. In 16 Proben wurde 2,4,6-TCP (8 über 50 µg/kg) und in 33 Proben 2,4,5-TCP (9 über 50 µg/kg) gefunden (Abbildung 1). Auffallend ist das scheinbar vermehrte Auftreten von 2,4,5-TCP in den untersuchten Proben, die im Jahre 1992 fabriziert wurden, wobei jedoch die Konzentrationen an 2,4,5-TCP unter 30 µg/kg lagen (Tabelle 2). Wenn aus letzteren Konzentrationen auf diejenige der Ausgangsmilch zurückgerechnet wird, ergibt dies eine 2,4,5-TCP-Konzentration von weniger als 5 µg/l Milch (Tabelle 3). Zwischen den Isomeren 2,4,5-TCP und 2,4,6-TCP findet keine chemische Umlagerung statt, was für eine verschiedene Herkunft der beiden Substanzen spricht. Unter den 2,4,5-TCP-enthaltenden Proben wurde nur in 2 Proben Fremdgeschmack festgestellt sowie in einer Probe, die kein 2,4,5-TCP enthielt (Abbildung 1). Generell ist zwischen den Gehalten der beiden Trichlorphenolisomeren und dem Auftreten eines Fremdgeschmacks keine Korrelation festgestellt worden.
In einer begrenzten Anzahl von Käsen (7 Proben) wurde sowohl die Rinde wie auch das Zentrum auf diese Chlorphenole untersucht. Dabei war 2,4,5-TCP nur in 3 Fällen gleichzeitig in der Rinde und dem Zentrum vorhanden, in einem Fall nur im Zentrum und in 3 Fällen nur in der Rinde. Trotz der begrenzten Anzahl der Proben, die einen relevanten Gehalt im Zentrum der Käse enthielten, weisen diese Resultate auf zwei verschiedene unabhängige Quellen hin, die zu dieser Kontamination beigetragen haben.

Rahm und Milch
Im Rahm von drei untersuchten Käsereien wurden gelegentlich nur Spuren der verschiedenen Chlorphenole nachgewiesen (Tabelle 3). In der lyophilisierten Milch wurden dagegen deutliche Konzentrationen an 2,4,5-TCP festgestellt, nicht aber die anderen Chlorphenole. Damit bestätigt sich, dass das 2,4,5-TCP als ein Umweltkontaminant angesehen werden muss. Eine Umrechnung auf die flüssige Milch ergibt eine TCP-Konzentration von etwa 2 µg/l Milch. Aufgrund der Arbeit von Bjerke et al. (6) sind solche geringe Konzentrationen in der Milch durchaus möglich.

Tabelle 1. Vorkommen von Chlorphenolen in der Milch (mg/l) nach Verfütterung von 2,4,5-Trichlorphenoxyessigsäure (6)

Verbindung	Konzentration im Futter (mg/kg)		
	100	300	1000
2,4,5-Trichlorphenoxyessigsäure	<0,05	<0,05 bis 0,28	0,29 bis 1,0
2,4,5-Trichlorphenol	<0,05 bis 0,07	<0,05 bis 0,13	0,09 bis 0,37

Tabelle 2. Aufteilung der auf 2,4,6- und 2,4,5-Trichorphenole untersuchten Proben von Käserinde nach Fabrikationsdatum (unbek. = unbekanntes Datum; pos. = positiv; nn = nicht nachweisbar)

Datum	6.91	7.	8.	9.	10.	11.	12.	1.92	2.	3.	4.	unbek.	Total
2,4,6-TCP													
Anzahl pos.		1	1	1		1	6	1		1		4	16
Anzahl nn	3		5	2		1	16	3	4	12	9	6	61
2,4,5-TCP													
Anzahl pos.	1	1	4				3		1	9	7	7	33
Anzahl nn	2		2	3		2	19	4	3	4	2	3	44

nn = nicht nachweisbar
pos. = positiv
Nachweisgrenze: 0.05 µg/kg

* Eine detaillierte Beschreibung der Analysenmethode wurde nicht mitgeteilt. Interessierten wird der Name des Labors auf Verlangen bekanntgegeben.

4. Diskussion

Der in diesen Käsen festgestellte Fremdgeschmack trat insgesamt nur in vereinzelten Chargen auf und war so intensiv, dass solche Käse vom Konsumenten nicht mehr akzeptiert würden. Er muss auf das Vorhandensein dieser Chlorphenole zurückgeführt werden. Es handelt sich dabei keineswegs um gesundheitsschädliche, sondern um Verunreinigungen in Spuren, die eine Qualitätsverminderung der Käse verursachen können.

Umwandlung der Chlorphenole in Chloranisole
Der bei Käsen auftretende Aromafehler „phenolisch" wird nicht allein durch die Chlorphenole verursacht, sondern er muss wahrscheinlich auch auf während der Lagerung entstandene Anisole zurückgeführt werden. So halten jedenfalls Maarse und Mitarbeiter (15) fest, dass eine Methylierung der Chlorphenole durch Schimmelpilze zu den entsprechenden Anisolen führt, was in Holzspänen von Mastküken gezeigt werden konnte (9). Chloranisole weisen sehr niedrige Geruchsschwellenwerte auf: beispielsweise das 2,3,6-Trichloranisol einen solchen von 0,3 pg/l; 2,4,6-Trichloranisol von 30 pg/l und 2,3,4,6-Tetrachloranisol von 4000 pg/l (22).

Mögliche Ursachen der 2,4,6-TCP-Kontamination in Käse
Eine grundlegende Untersuchung zur Bildung von 2,4,6-TCP wurde von Bosset (persönliche Mitteilung, 1990) durchgeführt. Dabei zeigte es sich, dass freies Phenol mit aktivem Chlor aus üblichen Desinfektionsmitteln reagieren kann. Ohne Katalysator wird Chlor nur in ortho- und para-Stellung des Phenols bis zum 2,4,6-TCP angelagert (24). Solche Reaktionsbedingungen lassen sich in Epoxiharzbodenbelägen und Holz finden.

Mögliche Ursachen der 2,4,5-TCP-Kontamination in Käse
Es können verschiedene Möglichkeiten für die Herkunft des 2,4,5-TCP in Käse, eventuell auch in anderen Milchprodukten, aus der Umwelt in Frage kommen. Eine direkte Synthese von 2,4,5-TCP aus Phenol ist nicht möglich (24). Es sollen im folgenden die wichtigsten möglichen Quellen als Arbeitshypothesen diskutiert werden.
Verwendung von Pestiziden: Es existieren verschiedene Pestizide, welche die Grundstruktur der Chlorphenole (2,4,5-Trichlorphenyl-) aufweisen (Tabelle 4). Es handelt sich dabei um Insektizide, Acarizide und Herbizide. Chemisch gesehen ist es möglich, dass aus diesen Substanzen das 2,4,5-TCP abgespalten wird. Die Herbizide 2,4-Dichlor- und 2,4,5-Trichlorphenoxyessigsäure werden mikrobiell in 4-Chlorphenol und 2,4,5-Trichlorphenol umgewandelt (16). Die 2,4,5-Trichlorphenoxyessigsäure wurde seit den 40er Jahren aus dem 2,4,5-TCP als Zwischenprodukt hergestellt, das durch alkalische Hydrolyse von 1,2,4,5-Tetrachlorbenzol bei Temperaturen zwischen 140 und 170 °C produziert wurde (20). Neben diesen Substanzen ist noch ein weiteres Insektizid, das Hexachlorcyclohexan, zu erwähnen, dessen bekanntestes Isomer das Lindan (γ-Hexachlorcyclohexan) ist. Dessen Anwendung ist in der Landwirtschaft mit Ausnahme als Saatbeizmittel nicht erlaubt (C. Wüthrich, Bundesamt für Gesundheitswesen, persönliche Mitteilung). Aus dem Hexachlorcyclohexan entstehen durch Hydroxylierung unter anderem 2,3,4,6-Tetrachlorphenol und 2,4,5-TCP (19). Dass

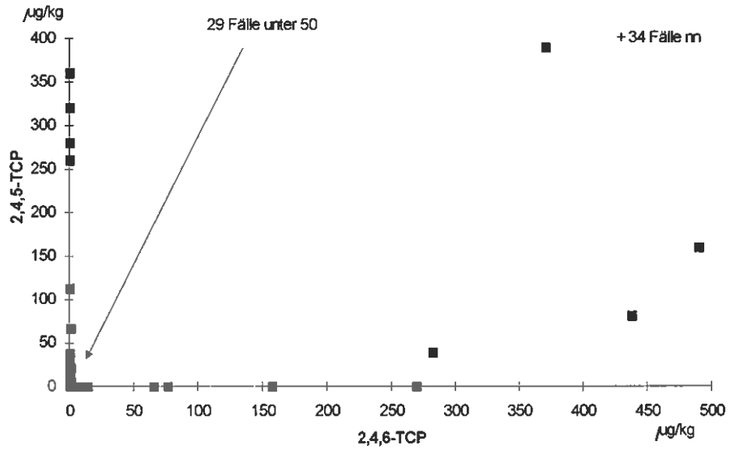

Abbildung 1. Vorkommen von 2,4,6- und 2,4,5-TCP in sämtlichen bisher untersuchten Käseproben (nn = nicht nachweisbar)

Tabelle 3. Chlorphenolgehalt (µg/kg) in Rahm und lyophilisierter Milch von drei Käsereien mit Chlorphenolproblemen

Monat	Fettgehalt g/kg	Käserei	2,4,6-TCP	2,4,5-TCP	Tetra-CP	Penta-CP
März 93	448	A	nn	0,4	nn	nn
(Rahm	353	B	nn	0,3	nn	nn
-	434	C	nn	nn	nn	nn
gemisch)						
April 93	441	A	nn	nn	0,7	0,8
(Rahm	261	B	nn	nn	nn	nn
-	538	C	nn	nn	nn	nn
gemisch)						
Mai 93		A	0,6	18,3	nn	0,3
(lyophil		B	0,5	15,5	nn	0,3
isierte						
Milch)		C	0,5	16,1	nn	0,3

nn = nicht nachweisbar (unter der Nachweisgrenze von 0.05 µg/kg)

Hexachlorcyclohexan im Pansen abgebaut wird, haben bereits Heeschen et al. (14) gezeigt. Für einige dieser Substanzen bestehen Toleranzwerte für verschiedene Lebensmittel, dies gilt auch für Lindan in Milch und Milchprodukten (0,2 mg/kg, bezogen auf Fett) (17). Dass eine Hydrolyse eines chlorphenolhaltigen Pestizides zu einem unerwünschten Aromafehler führen kann, zeigt sich am Beispiel von Melonen, die mit dem Pestizid Profenofos behandelt wurden und in denen 4-Brom-2-Chlorphenol nachgewiesen wurde (21).

Eine mögliche Kontaminationsquelle ist hier speziell zu erwähnen. Es ist bekannt, dass die Industrieländer grosse Mengen an Agrochemikalien in die Dritte Welt exportieren. Im Gegenzug liefern diese Länder Agrarprodukte als Futtermittel in die Industrieländer zurück. Es ist anzunehmen, dass diese Produkte mit den verschiedensten Pestiziden kontaminiert sein können und dass wahrscheinlich dies die Hauptquelle der 2,4,5-TCP-Kontamination in Käse sein könnte.

Klärschlamm: Pestizide, die in der Landwirtschaft verwendet werden, finden wahrscheinlich ihren Weg auch in den Klärschlamm. Mit deren Austrag auf die Wiesen können Chlorphenole den Weg über das Gras in die Kuh und dann in die Milch finden. In Klärschlamm wurden folgende Konzentrationen an Chlorphenolen in kg Trockenmasse gefunden (10):

2,4,5-TCP	<0,03 mg (BRD), <0,1 bis 0,13 mg (NL)
2,4,6-TCP	<0,03 bis 0,8 mg (BRD), 0,2 bis 1330 mg (USA)
2,3,4,6-TCP	<0,05 bis 0,1 mg (NL).

Weg über die Fütterung: Stijve (23) hat in Schlachtfetten (fleshing grease), die als Ingredientien im Futter von Kühen Verwendung finden, folgende Chlorphenol-Konzentrationen festgestellt:

2,4,5-Trichlorphenol:
50 bis 480 µg/kg
2,3,4,6-Tetrachlorphenol:
2060 bis 13400 µg/kg
Pentachlorphenol:
210 bis 1090 µg/kg.

Diese Fette stammten aus der Knochen- und Hautverarbeitung. Dabei werden Tierpelze mit Pentachlorphenol als Konservierungs- und Desinfektionsmittel verarbeitet. Die Anwendung von Pentachlorphenol und seinen Salzen sowie von Pentachlorphenoxyverbindungen ist in der Schweiz nach der Verordnung über umweltgefährdende Stoffe (18) verboten. Nach der gleichen Verordnung ist auch der Einsatz von 2,4,5-Trichlorphenoxyessigsäure und deren Salze sowie von 2,4,5-Trichlorphenoxyacetylverbindungen, 2-(2,4,5-Trichlorphenoxy)-propionsäure und deren Salze, von 2-(2,4,5-Trichlorphenoxy)-propionylverbindungen, von Pentachlorphenol und deren Salze sowie von Pentachlorphenoxyverbindungen nicht zugelassen. Da aber vor ihrem Verbot diese Stoffe in Anstrich-, Holzschutzmitteln usw. in grossen Mengen angewendet worden sind, finden sich auch heute noch in der Umwelt und in den Gebäuden dieses persistenten Chemikalien als Altlast.

Es finden sich jedoch keine weitere Angaben über das Vorkommen dieser Phenole in Milch und Futtermitteln.

Wasser: Die in der Landwirtschaft zugelassenen Pestizide können nach deren Anwendung auch ins Grund- und Trinkwasser gelangen. Nach der Fremd- und Inhaltsstoffverordnung (17) besteht für Phenole in Trinkwasser ein Toleranzwert von 0,005 mg/kg. Durch die Chlorierung des Trinkwassers werden Phenole zu Mono-, Di- und Trichlorphenolen in µg/kg-Bereich umgewandelt (26). Aus theoretischen Gründen kann dabei das 2,4,5-TCP nicht gebildet werden. Über die Verwendung als Tränkewasser können Mono-, Di- und Trichlorphenole auf dem Wege bis zum Endprodukt angereichert werden.

Medikamente: Nach dem Lehrbuch von Belitz und Grosch (5) existiert im weiteren ein Antiparasiticum mit dem Namen Oxyclozanid, das auf dem 2,4,5-TCP aufgebaut ist. Es kann als Therapeutikum gegen Leberegel zur Anwendung gelangen, ist jedoch in der Schweiz nicht erlaubt.

Käsebankungen: Um Holz zu konservieren, wurden früher höherchlorierte Phenole verwendet. In Kanada wurde 1981 das meiste Holz unter Hochdruck mit Pentachlorphenol behandelt (26). Es kann angenommen werden, dass Pentachlorphenol durch niedrigchlorierte Phenole, beispielsweise TCP, ersetzt wurde. Durch die Verwendung von solchem Holz als Käsebankungen können beim Kontakt TCP in die Käserinde übergehen.

Andere Möglichkeiten: Als weitere, aber nicht so wichtige Kontaminationsquellen könnten noch in Frage kommen:

– Emission aus Kehrichtverbrennungsanlagen: In solchen Anlagen könnten bei der Verbrennung von chlorhaltigen Abfällen, insbesondere von phenolischen Rückständen, Chlorphenole nicht vollständig verbrennen und über die Abluft in die Umwelt gelangen. Diese könnten sich auf dem Gras während der Winterzeit anreichern und über die Kuh in die Milch ausgeschieden werden.

– Als mögliche Kontaminationsquelle für Käse, die in der Silozone fabriziert werden, könnte neuerdings der Ersatz der polychlorierten Biphenyle (PCB) als Siloanstriche, die in den 80er Jahren zu hohen PCB-Gehalten in der Milch geführt hatten, durch Chlorphenole noch in Betracht gezogen werden (persönliche Mitteilung, Prof. J. Tarradellas, EPFL).

Tabelle 4. Pestizide und Tierarzneimittel mit der Grundstruktur des 2,4,5-TCP (5) unter Angabe des schweizerischen Toleranzwertes (17)

Gruppe	Name	Anwendung	Toleranzwert in CH mg/kg
Insektizide	Bromophos, Nexion	Gemüse, Obst, Getreide, Kartoffeln, Rüben, Raps, Futtermittel	Milch 0,05
Acarizide	Tetradifon, Tedion	Obst, Wein	Obst 3 Gurken 0,2
	Tetrasul, Animert	Gurken, Tomaten	Obst 0,05
Herbizide	2,4,5-T	Getreide, Wein	
Antiparasitica	Oxyclozanid	Therapeuticum gegen Leberegel	

Löslichkeit der Chlorphenole

Wenn davon ausgegangen werden kann, dass das 2,4,5-TCP aus der Umwelt in die Milch gelangt, ist noch abzuklären, wie es in den Käse gelangt. Zu diesem Zwecke wurden Rahm- und Milchproben aus drei Käsereien, die mit Chlorphenolproblemen konfrontiert waren, untersucht. Dabei wurde das 2,4,5-TCP praktisch nur in der lyophilisierten Milch gefunden (Tabelle 3). Dieser Befund lässt sich folgendermassen erklären: Trichlorphenole weisen einen pK-Wert von 6,0 auf. Bei einem pH-Wert von 6,0 liegen also 50 % des Phenols in nicht-dissoziierter und 50 % in dissoziierter Form vor. Bei einem pH-Wert von 5,0 ist das Phenol zu ca. 90 % nicht-dissoziiert und bei einem solchen von 7,0 zu ca. 10 %. Auf die Verhältnisse von Milch (pH-Wert: 6,7) übertragen, heisst das, dass dort die Trichlorphenole relativ gut wasserlöslich sind. Deshalb konnten diese im Rahm nicht, wohl aber in lyophilisierter Milch nachgewiesen werden. Bei den pH-Verhältnissen während der Käseherstellung (pH 4,6) werden jedoch die Trichlorphenole mehr fettlöslich und gehen dadurch in den Käse über.

Toxikologische Aspekte

Eine Risikoanalyse für die Chlorphenole wurde von der WHO (26) vorgenommen. Ausgehend von no-observed-effect levels von 100 mg/kg Körpergewicht (KG) für 2,4-Dichlorphenol (Mäuse, im Futter) und für 2,4,5-TCP (Ratte, oral) sowie von 10 mg/kg KG für 2,3,4,6-Tetrachlorphenol (Ratte, oral) und einem Unsicherheitsfaktor von 1000 für die letzteren beiden Substanzen und von 500 für die erste Substanz wird eine tolerierbare tägliche Aufnahme (Tolerable Daily Intake, TDI) von 200 µg/kg KG für das 2,4-Dichlorphenol, von 100 µg/kg KG für das 2,4,5-Trichlorphenol und von 10 µg/kg KG für das 2,3,4,6-Tetrachlorphenol berechnet. Die tägliche Aufnahme an diesen Chlorphenolen wird aus kanadischen Daten für eine Person, die nicht mit diesen Substanzen beruflich zu tun hat, mit 0,0833 µg/kg KG geschätzt: 0,058 µg/kg 2,4-Dichlorphenol, 0,0013 µg/kg 2,4,5-TCP und 0,024 µg/kg 2,3,4,6-Tetrachlorphenol, was für eine 60 kg schwere Person eine tägliche Aufnahme von etwa 5 µg ergibt. Neuerdings zeigte sich, dass 2,4,6-Trichlorophenol in in vitro-Versuchen zu Chromosomenschädigungen führen kann (1).

5. Schlussfolgerung

Zahlreiche Arbeiten zeigen, dass die Chlorphenole im allgemeinen die Ursache für verschiedene Geschmacks- und Aromaveränderung von Lebensmitteln sind (22, 26). Das Problem ist also nicht spezifisch für Milch und Milchprodukte. Was im speziellen die Käserinde betrifft, ist es wahrscheinlich, dass das Problem nicht neu sein dürfte, aber dass es nicht oder nur selten bemerkt wurde. An den Anfang des in den letzten Jahren vermehrt beobachteten Auftretens von Chlorphenol-Kontaminationen muss wahrscheinlich die präventive oder aktive Bekämpfung der Listeriose gesetzt werden. Erst mit dem Auftreten verschiedener „Betriebsunfälle" wie den Lagerungsproblemen in einigen Käsereien (bedeutende Kontamination der Käse mit 2,4,6-TCP infolge des Waschens, der Reinigung oder der Desinfektion der Käsebankungen mit aktivem Chlor-enthaltenden Produkten wie Javelwasser, P_3-142) wurden solche Verbindungen systematisch untersucht. Dabei wurden weitere Chlorphenole in Käse gefunden. Diese Situation hat inzwischen zu einer Verbesserung der verfügbaren Analysenmethoden geführt: Entwicklung einer „Sniffing"-Technik nach Erhitzung der Proben in einem Mikrowellenofen, Übergang von der GC-MS- auf die empfindlichere GC-ECD-Bestimmung. Dadurch wurde eine neues „Problem" in Form anderer Chlorphenole in Käse geschaffen.

In bezug auf das 2,4,6-TCP konnte die Situation saniert werden, vor allem seit der Empfehlung, aktives Chlor für das Waschen von Einrichtungen in Käsereien und Käsereifungslagern nicht zu verwenden.

Was das 2,4,5-TCP im Käse betrifft, so hat sich in den Untersuchungen an lyophilisierter Milch gezeigt, dass dieses Chlorphenol als Umweltkontaminant angesehen werden muss. Der Ursprung dieser Verbindung ist jedoch viel problematischer und ist noch mit verschiedenen Hypothesen behaftet. Von den verschiedenen diskutierten möglichen Kontaminationsquellen müssen als wahrscheinlich bezeichnet werden: Rückstände von Agrochemikalien in Form von Pestiziden (Herbizide, z.B. 2,4,5-T, Acarizide) oder eventuell - aber eher unwahrscheinlich - Medikamente im Futter oder im Kraftfutter. Solche Substanzen mit einer Grundstruktur des 2,4,5-Trichlorphenyls können einzig von der agrochemischen Industrie synthetisiert werden (die Synthese dieser Verbindungen geht nicht vom Phenol aus). Es dürfte jedoch äusserst schwierig sein zu bestimmen, in welchen Produkten diese Rückstände vorhanden sind und aus welchen Ländern sie importiert werden. So kann beispielsweise ein Futtermittel, das in der Schweiz oder in einem europäischen Land homologiert ist, Ingredientien enthalten, die aus Ländern stammen, in denen die gesetzlichen Anforderungen in bezug auf die Verwendung von Agrochemikalien weniger streng sind. Eine der Hauptschwierigkeiten bei der Bestimmung dieser organischen Substanzen liegt in deren Nachweisgrenze im Futter, Wasser und Abwässern. Unter der Voraussetzung, dass eine Anreicherung von einem Faktor von mehr als 10 in der Kette Futter/Wasser -> Kuh -> Milch -> Käse stattfindet und dass die Nachweisgrenze ungefähr zwischen 0,2 und 1,0 µg/kg Probe (je nach Matrix) beträgt, können Chlorphenolgehalte im neutralen Milieu in der Milch und im sauren Milieu im Käse gemessen werden. Dies würde auch die wenigen Informationen erklären, die bei Spezialisten auf diesem Gebiete vorhanden sind.

Die verantwortlichen Kreise konzentrierten sich vor allem auf die Chlorphenole, während die Chloranisole, die stärker wahrnehmbar sind (10 bis 100 mal je nach Struktur der Verbindung) wahrscheinlich auch für Aromafehler in der untersuchten Käserinde verantwortlich sind. Die biologische Umwandlung der Chlorphenole in die entsprechenden Anisole erfolgt durch die Wirkung von Mikroorganismen (Methylierung der Phenolgruppe), was bereits verschiedentlich beschrieben wurde. Diese Bemerkung erklärt somit auch die scheinbare Absenz einer Korrelation zwischen den gemessenen Chlorphenolkonzentrationen und den Ergebnissen der sensorischen Taxation.

In toxikologischer Hinsicht sind die bis jetzt in Käse nachgewiesenen Chlorphenolkonzentrationen nicht relevant. Dies dürfte auch einer der Gründe sein, weshalb diese verschiedenen Substanzen in Lebensmitteln so wenig studiert wurden im Gegensatz zu den stärker gesundheitsgefährdenden Dioxinen und polychlorierten Biphenylen (PCB). Man könnte geradezu in den stark riechenden Eigenschaften dieser Verbindungen (Chlorphenole und Chloranisole) einen Vorteil sehen, indem dadurch die Konsumenten vor einer Aufnahme solcher Substanzen geschützt werden.

6. Dank

Wir danken den Herren Prof. Dr. W. Heeschen und Dr. A. Blüthgen, Bundesanstalt für Milchforschung, Kiel, für die uns zur Verfügung gestellte Literatur.

7. Literatur

1 ARMSTRONG, M. J., GALLOWAY, S. M., ASHBY, J.: 2,4,6-Trichlorophenol (TCP) induces chromosome breakage and aneuploidy in vitro. Mutat.Res. 303, 101-108 (1993)
2 BARLOW, I., DUNSTONE, E.A., LLOYD, G.T., RAMSHAW, E.H., STARK, W.: Investigation of a medicinal/chlorophenolic taint in Cheddar cheese. CSIRO Dairy Research Report No. 40 (1985)
3 BARLOW, I., LLOYD, G.T., RAMSHAW, E.H., URBACH, G.: Analysis of phenolic components in cheese and packaging. Brief Communicat. XXIII. Int. Dairy Congr. (1990) 115
4 BARLOW, I., LLOYD, G.T., RAMSHAW, E.H.: Analysis of phenolic contaminants in foodstoffs and packaging materials. CSIRO Dairy

Res.Rep. No. 54 (1993)
5 BELITZ, H.-D., GROSCH, W.: Lehrbuch der Lebensmittelchemie. 4. Auflage. Springer Verlag, Berlin (1992)
6 BJERKE, E.L., HERMAN, J.L., MILLER, P.W., WETTERS, J.H.: Residue study of phenoxy herbicides in milk and cream. J. Agr. Food Chem. 20, 963-967 (1972)
7 BOSSET, J.O., BIEDERMANN, R., GAUCH, R., PFEFFERLI, H.: Aromafehler in der Rinde von Emmentalerkäsen, verursacht durch die Emission flüchtiger Substanzen des Epoxiharzbodens eines Reifungskellers. Schweiz. milchw. Forsch. 22, 8-11 (1993)
8 BOYLE, J.L., LINDSAY, R.C., STUIBER, D.A.: Bromophenol distribution in salmon and selected seafoods of fresh- and saltwater origin. J. Food Sci. 57, 918 - 922 (1992)
9 CURTIS, R.F., DENNIS, C., GEE, J.M., GEE, M.G., GRIFFITHS, N.M., LAND, D.G., PEEL, J.L., ROBINSON, D.: Chloroanisoles as a cause of musty taint in chickens and their microbiological formation from chlorophenols in broiler house litters. J. Sci. Food Agr. 25, 811-828 (1974)
10 DRESCHER, U., BRÜGGEMANN, R., MATTHIES, M., MATTHES, B.: Angewandter Umweltschutz. Organische Schadstoffe in Klärschlämmen. Ecomed. Landsberg (1990)
11 FRANK, R., BRAUN, H.E., HOLDRINET, M., SIRONS, G.J., SMITH, E.H., DIXON, D.W.: Organochlorine insecticides and industrial pollutants in the milk supply of Southern Ontario, Canada. J. Food Protect. 42, 31-37 (1977)
12 FUKAYA, T., ISHIGURO, Y., YOKOYAMA, M., HIROI, S., MURAOKA, A.: Appearance of 2,6-dichlorophenol in carrot treated with sodium hypochlorite. J. Jap. Soc. Food Sci. Technol. 40, 244 (1993)
13 HARDING, F., MORRIS J.L.: Chlorophenol taints in liquid milk. XX. Int. Dairy Congr. E, 117 (1978)
14 HEESCHEN, W., NIJHUIS, H., BLÜTHGEN, A.: Untersuchungen zur Bedeutung des Um- und Abbaus von Hexachlorcyclohexan (HCH) im Milchtier und in der Umwelt für die HCH-Kontamination der Milch. Milchwissenschaft 35, 221-224 (1980)
15 MAARSE, H., NIJSSEN, L.M., JETTEN, J.: Chloroanisoles: a continuing story. In Berger, R.G., Nitz, S., Schreier, P.: Topics in flavour research. H.Eichhorn Verlag, Marzling (1985) 241
16 MIKESELL, M.D., BOYD, S.A.: Reductive dechlorination of the pesticides 2,4-D, 2,4,5-T, and pentachlorophenol in anaerobic sludges. J. Environ. Qual. 14, 337-340 (1985)
17 Verordnung über Fremd- und Inhaltsstoffe in Lebensmitteln (Fremd- und Inhaltsstoffverordnung) (SR 817.022). EDMZ, Bern (1990)
18 Verordnung über umweltgefährdende Stoffe (Stoffverordnung) (SR 814.013). EDMZ, Bern (1992)
19 PORTIG, J.: Elimination von Hexachlorcyclohexan (HCH) durch Säugetiere. in Deutsche Forschungsgemeinschaft: Hexachlorcyclohexan als Schadstoff in Lebensmitteln. Verlag Chemie, Weinheim (1983) 108-118
20 SAMBETH, J.: Der Seveso-Unfall. Chimia 36, 128-132 (1982)
21 SANCHEZ SAEZ, J.J., GARRALETA, M.D.H., ANTON, P.C., FOLGUERAS ALONSO, M.L.: Identification of 4-bromo-2-chlorophenol as a contaminant responsible for organoleptic taint in melons. Food Addit.Contam. 8, 627-632 (1991)
22 SAXBY, M.J.: A survey of chemicals causing taints and off-flavours in foods. In Saxby, M.J.: Food taints and off-flavours. Chapman Hall, Glasgow (1993) 35-62
23 STIJVE, T.: Determination of pentachlorophenol and 2,3,4,6-tetrachlorophenol in edible gelatins. Dt. Lebensm. Rdsch. 77, 249-253 (1981)
24 STRACK, H.: Chlorphenole. Ullmanns Encyklopädie der technischen Chemie, Band 9. Verlag Chemie, Weinheim (1975) 573-577
25 WHO: Pentachlorophenol. Environmental Health Criteria 71, WHO, Geneva (1987)
26 WHO: Chlorophenols other than pentachlorophenol. Environmental Health Criteria 93, WHO, Geneva (1989)

Résumé

De la présence et de l'origine des chlorophénols dans la croûte des fromages: une revue

J.O. BOSSET, R. SIEBER, F. SCHMUTZ
Schweiz.Milchw.Forschung 23 (3), 47–52 (1994)
Le présent travail tend à faire le point quant à la contamination de fromages par des chlorophénols. A cette fin, la teneur en chlorophénols de la croûte de 70 fromages présentant un défaut d'arôme a été analyée par GC-MS. Dans 19 cas, on a trouvé du pentachlorophénol, dans 10 cas, du tétrachlorophénol, dans 16 cas, du 2,4,6-trichlorphénol et dans 33 cas, du 2,4,5-trichlorophénol. Ces deux trichlorophénols ne sont pourtant que rarement présents simultanément. Dans une autre étude, 3 fromages sur 7 contenaient du 2,4,5-trichlorphénol en même temps dans la croûte et dans la centre des meules. Le 2,4,6-trichlorphénol est dû principalement à la réaction du chlore actif contenu dans certains agents de nettoyage et de désinfection avec le phénol naturellement présent dans l'environment immédiat du fromage (bois). Le 2,4,5-trichlorophénol semble en revanche être un contaminant déjà présent dans le lait et dont les diverses origines possibles doivent être recherchées dans l'environnement. De par leur solubilité dans l'eau ou dans la matière grasse en fonction du pH du milieu considéré, ces divers chlorophénols peuvent pénétrer dans les fromages soit directement pendant la fabrication, soit par lente diffusion pendant le stockage. Le probléme est encore compliquée par la possible transformation ultérieure des chlorophénols en chloroanisols par des microorganismes.

Summary

Occurrence and origin of chlorophenols in cheese rind: a review

J.O. BOSSET, R. SIEBER, F. SCHMUTZ
Schweiz.Milchw.Forschung 23 (3) 47-52 (1994)
The present study deals with the situation of chlorophenols in cheese. The rind of 70 loaves with a „chemical off-flavour" were investigated using GC-MS. Pentachlorophenol was detected in 19, tetrachlorophenol in 10, 2,4,6-trichlorophenol in 16, and 2,4,5-trichlorophenol in 33 samples. Both types of trichlorophenol seldom occurred simultaneously in the same loaves. In another study 2,4,5-trichlorophenol was simultaneously detected in the cheese rind and body of 3 loaves out of 7. The occurrence of 2,4,6-trichlorophenol is mainly due to the reaction of free chlorine present in certain cleaning and desinfection agents with phenol contained in the environment of cheese loaves. 2,4,5-trichlorophenol should be considered as a environmental pollutant already present in milk. Owing to their pH-dependent solubility in aqueous and fatty phases, these trichlorophenols can directly enter cheese (carry over) during manufacture or by slow and constant diffusion during ripening, especially into the outer zone. This problem is further complicated by the possible conversion of chlorophenols to chloroanisols by micro-organisms.