



Tropán alkaloidok az élelmiszerekben – rendeleti háttér és gyakorlati analitikai tapasztalataink

Balázs G., Kocsisné Bárdos Gy., Keresztúri J., Dési E.:

Budapest, 2022.04.18. – Hungalimentaria 2023



Miért érdemes beszélni a tropán alkaloidokról 2023-ban?

- **Megváltozott jogszabályi környezet:** az 1881/2006/EK rendeletet módosító (EU) 2021/1408 rendelettel új felső határértékek léptek hatályba 2022. szeptember 1-től
- **Gyakori riasztások:** (i) RASFF 2023 március, Atropin és szkopolamin teff lisztben Németországban, alapanyag: Hollandia, magyarországi forgalmazója is volt, (ii) szlovákiai eset, 2021-ben húsvét előtt 93 telefonhívás érkezett a Hatóságokhoz rövid időn belül rosszullétre panaszkodva (fagyasztott spenót)
- Figyelmeztető **statisztikai adatok** friss tanulmányokban: (i) González-Gómez és mtsai 2022: 51 kereskedelmi forgalomban lévő fűszerminta 67%-a szennyezett volt atropinnal, szkopolaminnal (legmagasabb: köményben, szegfűszegben és korianderben észlelték), (ii) Vuković és mtsai 2022: 103 vizsgált kukorica alapú Szerbiában kereskedelmi forgalomba lévő mintából 32 minta (31,1%) volt szennyezett 1,0 µg/kg feletti koncentrációban.

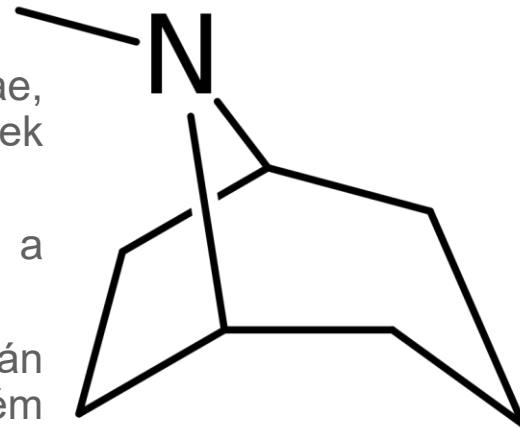
Az előadás tartalma

- Rövid áttekintés – mik ezek a tropán alkaloidok?
- Hogyan kerülnek az élelmiszerbe / milyen hatást váltanak ki az emberi szervezetben?
- Mi a mostani jogszabályi környezet?
- Analitikai megoldások
- Jó laboratóriumi gyakorlat, kihívások és nehézségek, javaslatok



Tropán alkaloidok - legfontosabb tudnivalók

- Másodlagos metabolitok, jelen vannak a Brassicaceae, Solanaceae, Convolvulaceae és Erythroxylaceae családokba tartozó növények egyes növényi részeiben (magban, levélben etc.).
- Legismertebbek: nadragulya, beléndek, csattanó maszlag vagy a kokacserje
- Több mint 200 különböző TA-t azonosítottak. A leggyakoribb tropán alkaloidok az atropin ((-)-hioszciamin és a (+)-hioszciamin racém keveréke), és a szkopolamin.
- A tropánalkaloidokat tartalmazó növényi kivonatokat nyomait már bronz korból származó hajból is kimutatták, régóta használják rituális, rekreációs vagy gyógyászatban célokra, de gyakori nem kívánt mérgező hatású szennyezőként is az élelmiszerláncban

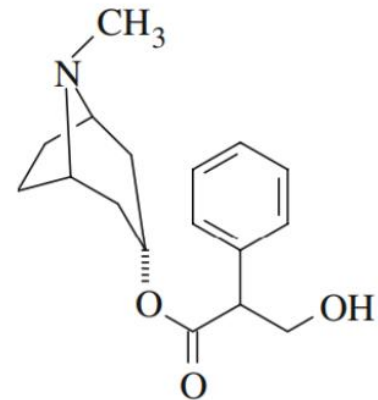


A tropánalkaloidok vázát alkotó tropán kémiai szerkezete

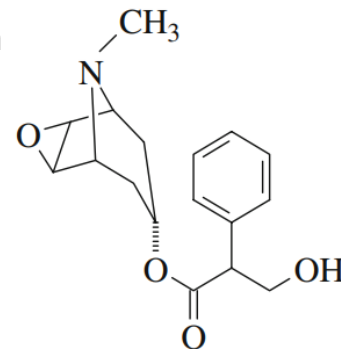
Tropán alkaloidok - mint szennyezők az élelmiszerekben

- Egyes növények önmagukban is termelik, de a legtöbb eset amikor a közeli, azokat gyomnövényekkel együtt takarítják be a haszonnövényeket
- Leggyakoribb nem kívánt előfordulásuk: gabonafélék, gabonaalapú bébiételek, hajdina, olajos magvak, szójatermékek, gyógyteák és fűszerek.
- Leggyakoribb forrásuk: magvak, mint például *Atropa belladonna* (halálos nadálytő), vagy a *Hyoscamus niger* és a *Datura stramonium* (közönséges datura) bogyói

Atropin

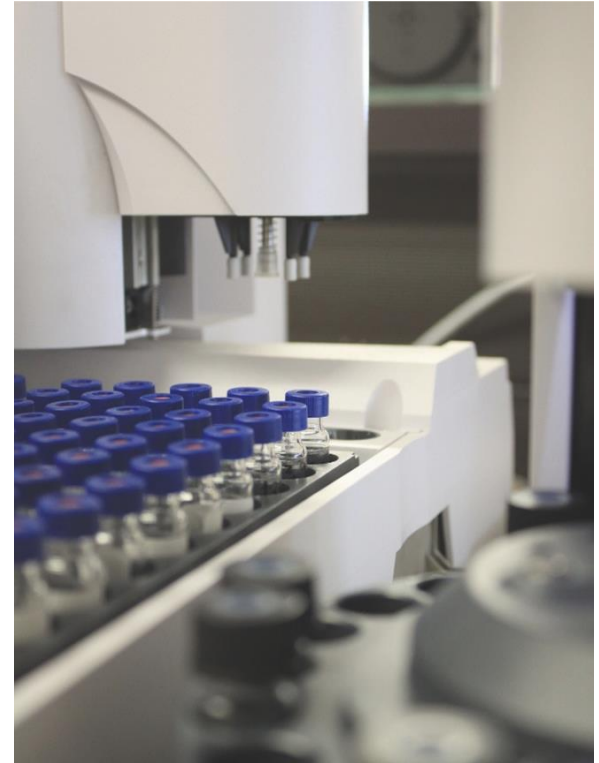


Szkopolamin



Tropán alkaloidok – nem kívánt hatások

- Jellemzően receptorok gátlóanyagként lépnek fel a szervezetben. a paraszimpatikus és a központi idegrendszerre is hatással lehetnek.
- Tünetek sokfélék a mérgezés súlyosságának függvényében: szájszárazság, szomjúság, testhőmérséklet emelkedés, bőrvörösödés, esetleges kiütések, pupillatágulás, fényérzékenység, pulzusszám emelkedés, szédülés, gyakori hangulatváltozások, mozgáskényszer, élénk beszéd, nevető-síró rohamok, delírium, nyelési zavar, izomgörcsök vagy ideiglenes bénulás legrosszabb esetben légzés vagy szívbénulás etc.



EFSA - Európai Élelmiszerbiztonsági Hatóság

- **2013: Scientific Opinion on Tropane alkaloids in food and feed**
- **2016: Occurrence of tropane alkaloids in food**
- **2018: Human acute exposure assessment to tropane alkaloids**
- **2022: Assessment of the Conclusions of the Joint FAO/WHO Expert Meeting on Tropane Alkaloids**

Utóbbiból kiemelendő:

(i) Magas arányú előfordulási értéket találtak teákban, teafüvekben, gyógynövény alapú készítményekben, fűszerekben, kendermag esetén, gabonaféléknél

(i) Csecsemők, kisgyermek és más gyermekek magasabb akut expozíciót mutattak a többi korosztályhoz képest. Azaz a csecsemők és kisgyermek étrendje jóval kitettebb ennek a kockázatnak



Tropánalkaloidok	Felső határérték (µg/kg)	
	Atropin	Szkopolamin
Kölest, cirokot, hajdinát, kukoricát és ezekből származó termékeket tartalmazó, csecsemők és kisgyermekek számára készült, feldolgozott gabonaalapú élelmiszerek és bébiételek ⁽³⁾ ⁽²⁹⁾	1	1

	Az atropin és szkopolamin összege
Feldolgozatlan köles és cirok ⁽¹⁸⁾	2022. szeptember 1-jétől 5,0
Feldolgozatlan kukorica ⁽¹⁸⁾ a következők kivételével: — nedves őrléssel történő feldolgozásra szánt feldolgozatlan kukorica ⁽³⁷⁾ és — pattogatásra szánt feldolgozatlan kukorica	2022. szeptember 1-jétől 15
Feldolgozatlan hajdina ⁽¹⁸⁾	2022. szeptember 1-jétől 10

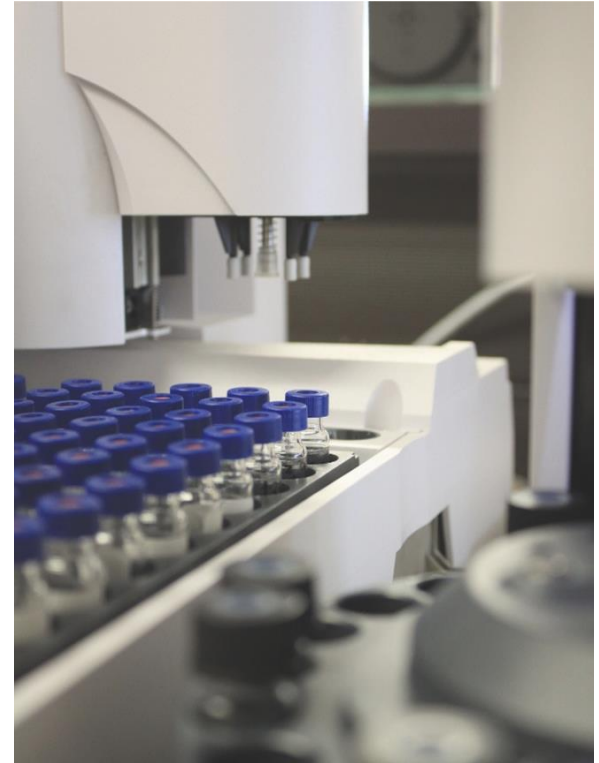
A BIZOTTSÁG (EU) 2021/1408 RENDELETE az
1881/2006/EK módosításáról,

	Az atropin és szkopolamin összege
Pattogatásra szánt kukorica Végső fogyasztók számára forgalomba hozott köles, cirok és kukorica Kölesből, cirokból és kukoricából származó malomipari termékek	2022. szeptember 1-jétől 5,0
Végső fogyasztók számára forgalomba hozott hajdina Hajdinából származó malomipari termékek	2022. szeptember 1-jétől 10
Gyógynövényforrázat (szárított termék), a 8.2.8. pontban említett gyógynövényforrázatok kivételével	2022. szeptember 1-jétől 25
Ánizsmagból származó gyógynövényforrázatok (szárított termék)	2022. szeptember 1-jétől 50
Gyógynövényforrázatok (folyékony)	2022. szeptember 1-jétől 0,20

Analitikai módszerek (atropin, szkopolamin)

- Atomemissziós (AES) vagy atomabszorpciós spektroszkópia (AAS)
- UV spektroszkópia
- ELISA
- GC , vagy GCMS
- Kvantitatív vékony réteg kromatográfia (TLC), vagy HPTLC, kapilláris elektroforézis (CE), micelláris elektrokinetikus kromatográfia tömegspektrométerrel kapcsolva (MEKC-MS)
- fordított fázisú LC - UV detektálással (RP-LC) és LC-MS-MS

Ajánlás: tipikusan LC-MS-MS, folyadék-folyadék extrakció után, vagy ha nem áll rendelkezésre akkor GC-MS

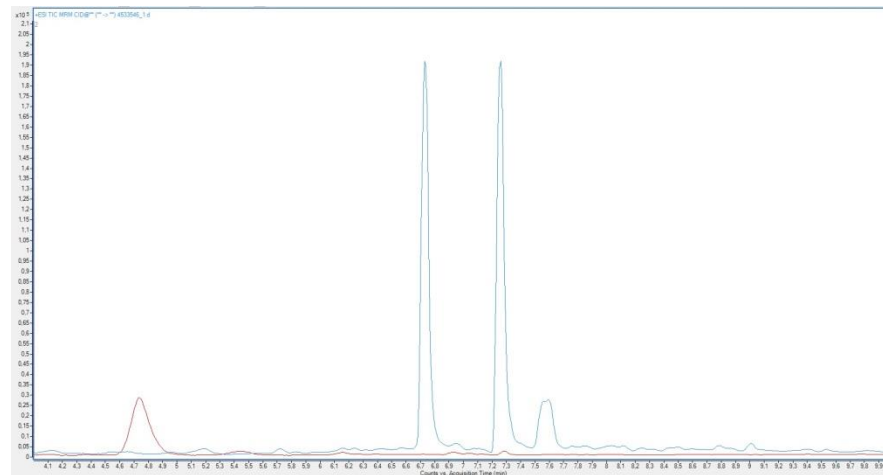
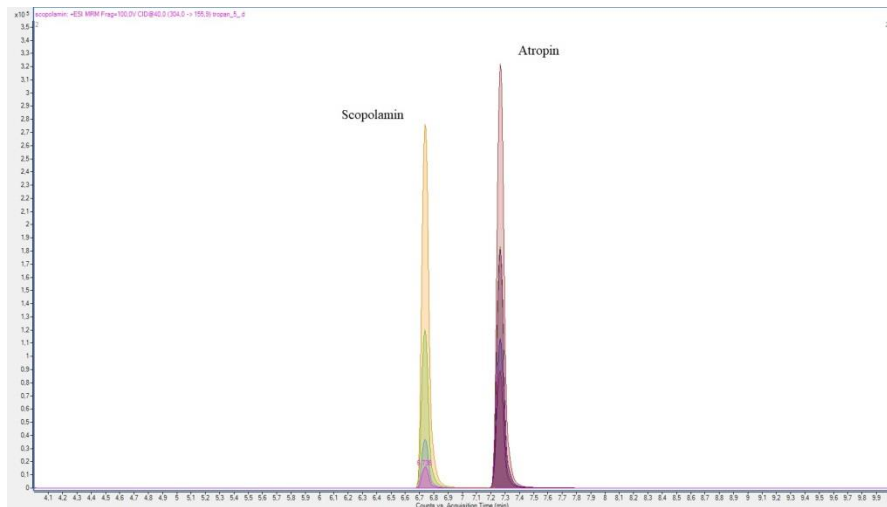


Analitikai módszerek (atropin, szkopolamin)

- A szakirodalom abban nem egységes, hogy SPE tisztítás szükséges-e (a szabvány nem írja elő)
- A laboratóriumok saját, validált módszere vannak akkreditálva, vagy az EN 17256-ra (Mintavételi és elemzési módszerek. Ergotalkaloidok és tropánalkaloidok meghatározása takarmányanyagokban és összetett takarmányban, LC-MS/MS-sel)
- A közölt analitikai módszerek közül általában az extrahálás metanollal vagy acetonitrillel tisztítás nélkül történik. Az EN17256 szabvány 0,4 %-os hangyasavas metanol víz elegy 60-40.
- Mintaelőkészítés: $\leq 0,5$ mm-es szemcseátmérő, 2 lépésben (túl melegedés, 1mm elsőre), mintamennyiség legalább 4 gramm mintamennyiség (EN 17256), standard addíció, vak, napi kalibráció szükséges

Analitikai módszerek (atropin, szkopolamin)

Supelco Discovery HS C18 250*4,6*5µm, áramlási sebesség: 0,6ml/perc, injektált térfogat: 10 µl, A eluens: 1 ml hangyasav 1 l MilliQ vízben, B eluens: Acetonitril, gradiens, Ionforrás MS ESI, ESI POS mód, bal oldalt kalibrációs sor, jobb oldalt egy pozitív és egy negatív minta kromatogramja



Saját tapasztalatok

- Megerősítik, hogy a napi kalibráció mellett a mérési sorozatban standard addíciós (spike-olt) minta szükséges, ha a mátrixok különböznek, akkor akár több is.
- Párhuzamos nem elhagyható, különböző beméréssel
- A visszanyerések értéke mátrix függően, de jellemzően 50 és 130 % között van.
- Mérés során tíz mintákként ellenőrző pontot érdemes injektálni
- Elvárhatónak lehet nevezni, hogy a célkomponensek kromatográfiás retenciós ideje $\pm 2,5\%$ határon belül egyenlő kell hogy legyen a kalibráló oldatével.
- **Pozitív esetek:** fűszerkömény, bors, fahéj, szárított kapor, szárított vagy gyorsfagyasztott spenót, spenót tartalmú készétel, tea, hüvelyesek (gyorsfagyasztott), izolált növényi fehérje, popcorn

A mérések megbízhatóságáról

EN 17256	Koncentráció, C (µg/Kg)	Ismételhetőség SD (µg/Kg)
Atropin	16,0 - 252,0	0,313 x C
Szkopolamin	14,8 - 245,9	0,342 x C

- 2021, Wageningen Food Safety Research, 32 résztvevő (EU), LC-MS rendszerek, A és B referencia anyag, az atropin és a szkopolamin összegét tekintve RSD_R : 20% és 17%.
- Mindkét minta esetén (A és B) 87% az eredményeknek elfogadható szórást mutatott: z-scores ($|z| \leq 2$), 6% esett a $2 < |z| < 3$ tartományba és 7% nem felelt meg. $|z| \geq 3$

Köszönöm a figyelmet!

Kapcsolat

BALÁZS Gábor

Osztályvezető - Analitikai Osztály, Élelmiszerbiztonsági Üzletág
Head of the Food Analytical Department - Food Safety Business Unit

Eurofins Analytical Services Hungary Kft.

Anonymus utca 6.

H-1045 Budapest

Mobile: + 36 20 357 5124

Phone: + 36 1 872 3743

E-mail: balazs.gabor@laboratorium.hu

Web: <https://www.eurofins.hu/hu/analytical-services-hungary/>



Analytical Services