



Autorin: Dr. Marianne Erbs

Untersuchungen von Lebens- und Nahrungsergänzungsmitteln auf Tropanalkaloide

Anzahl untersuchte Proben: 51

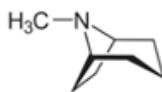
Anzahl beanstandete Proben: 1

Beanstandungsgrund: Überschreitung der akuten Referenzdosis

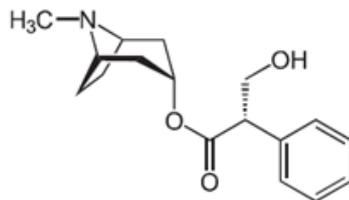
Ausgangslage

Tropanalkaloide sind sekundäre Pflanzenmetabolite, die in Nachtschattengewächsen wie Stechapfel, Bilsenkraut, Engelstrompete und Tollkirsche weit verbreitet sind. Sie kommen aber auch sporadisch in Winden-, Rotholz-, Silberbaum-, Rhizophora- und Wolfsmilchgewächsen sowie Kreuzblütlern vor. Sie werden in den Wurzeln gebildet und mit dem Flüssigkeitsstrom über die Pflanze verteilt. Die Konzentrationen sind in der Regel am höchsten in den Wurzeln und Samen, wo sie vermutlich als Schutz gegen Frassfeinde dienen. Unterschiedliche Tropanalkaloide können gleichzeitig und in allen Pflanzenteilen vorkommen. Das Tropanalkaloidprofil unterscheidet sich zwischen Pflanzenarten sowie innerhalb der einzelnen Pflanzenorgane der Spezies und wird vom Entwicklungsstadium sowie zahlreichen Umgebungsbedingungen beeinflusst.

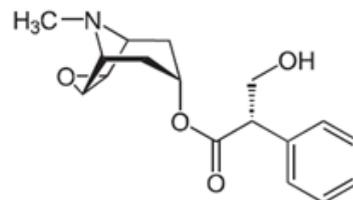
Über 200 verschiedene Tropanalkaloide wurden bisher in diversen Pflanzen identifiziert. Tropanalkaloide sind organische Esterverbindungen, die das bicyclische Grundgerüst Tropan gemeinsam haben. Die Zweiringstruktur besteht aus je einem Pyrrolidin- und Piperidinring, welche ein Stickstoff- und zwei Kohlenstoffatome teilen. Das für Alkaloide charakteristische Stickstoffatom befindet sich am Ende des Moleküls und ist bezeichnend für die Gruppe der Tropanalkaloide methyliert. Die wichtigsten Tropanalkaloide sind (*S*)-Hyoscyamin und (*S*)-Scopolamin. Atropin ist das racemische Gemisch von den (*S*)- und (*R*)-Enantiomeren von Hyoscyamin. Daher wird Atropin meistens als Hauptindikator für (*S*)-Hyoscyamin verwendet um den toxischen Gehalt anzugeben ohne die stereoisomerische Komposition zu nennen.



Tropan



(*S*)-Hyoscyamin



(*S*)-Scopolamin

(*S*)-Hyoscyamin und (*S*)-Scopolamin inhibieren die Bindung von Acetylcholin zu seinen Rezeptoren. Da Acetylcholin ein wichtiger Neurotransmitter ist, hat dies Folgen für die Herzfrequenz, Atmung und das Zentralnervensystem. Die (*R*)-Enantiomere von Hyoscyamin und Scopolamin kommen in der Natur nicht vor und wirken im Vergleich zu den natürlichen (*S*)-Enantiomeren weit weniger anticholinergisch. Kokain – die Rauschdroge des Cocastrauches – ist ein weiterer prominenter Vertreter der Tropanalkaloide. Im Gegensatz zu anderen Tropanalkaloiden wirkt (*S*)-Kokain auf ganz andere Nervenzellen und ist im vorliegenden Kontext nicht von Relevanz.

Seit Jahrhunderten werden Tropanalkaloid-haltige Pflanzen in der Pflanzenheilkunde gebraucht. Die in früheren Zeiten noch unbekannt chemische Zusammensetzung verliehen den Pflanzen mystische Fähigkeiten und liessen sie als Hexenkraut bzw. Hexensalben gelten, weil sie bereits über die Haut psychoaktive Wirkungen auslösen können. Tollkirsche-Arten wurden schon im Altertum und Mittelalter auf vielfältige Weise als Rausch-, Liebes- und Zauberdroge genutzt. Noch im 17. Jahrhundert wurden Extrakte von Bilsenkrautsamen von Brauereien verwendet um Biere berauschender zu machen. Tropanalkaloide erweitern die Bronchien. Demnach wurden Stechapfelblätter noch bis weit ins 20. Jahrhundert hinein als Räuchermittel bei Asthma verwendet. Auch als Mord- und Selbstmordgifte wurden Tollkirschenbeeren sowie Bilsenkraut- und Stechapfelsamen herangezogen. In gewissen Teilen dieser Pflanzen wurden bis zu 0,9% (9 mg/g) Gesamtgehalt an (S)-Hyoscyamin und (S)-Scopolamin nachgewiesen. Vergiftungssymptome dieser Stoffe umfassen Trockenheit von Schleimhäuten (verminderter Speichelfluss, Mundtrockenheit), Hautrötung, Unruhe, Pupillenerweiterung, in höheren Mengen Benommenheit, Sehstörungen, Desorientierung und Halluzinationen, Herzrhythmusstörungen sowie komatöse Zustände und Bewusstlosigkeit bis hin zum Tod durch Atemlähmung. Die Symptome treten relativ rasch (5 bis 30 Minuten) nach der Einnahme auf. Für Erwachsene können 10-20 Tollkirschenbeeren bzw. Stechapfel- oder Bilsenkrautsamen ohne Behandlung bereits tödlich sein. Heute werden die reinen Wirkstoffe Atropin, (S)-Hyoscyamin und (S)-Scopolamin in vielen Bereichen der modernen Medizin eingesetzt.



Schwarzes Bilsenkraut



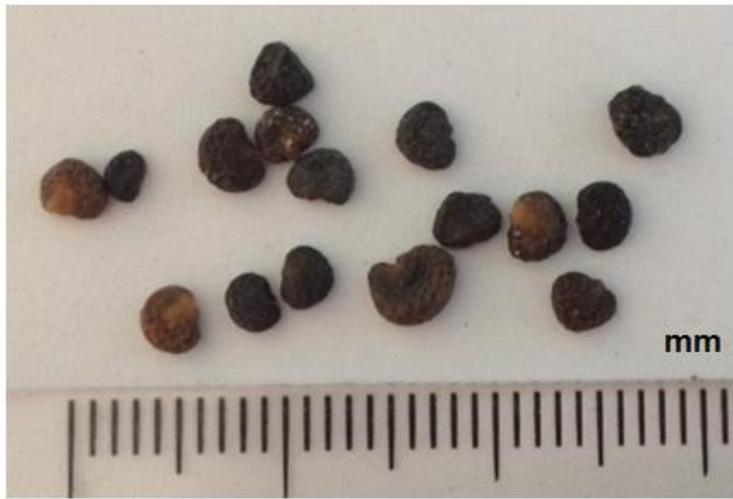
Gemeiner Stechapfel



Schwarze Tollkirsche

Gemäss heutigem Wissensstand ist das Vorkommen von Tropanalkaloiden in essbaren Pflanzen, die für Lebensmittel kultiviert werden, nicht von Bedeutung. Hingegen sind Vergiftungen durch Verzehr von Lebensmitteln, die mit tropanalkaloid-haltigen Pflanzenteilen kontaminiert waren, in der Literatur immer wieder beschrieben worden. Insbesondere Verunreinigungen mit Samen des Stechapfels, Beeren der Tollkirsche oder auch Samen des Bilsenkrauts führen zur Kontamination von Lebensmitteln mit Tropanalkaloiden. In Mitteleuropa sind in den letzten 10 Jahren vermehrt Stechapfelsamen-verunreinigte Hirse- und Buchweizenprodukte in den Fokus geraten. Verschiedene Arten der Stechapfelpflanze sind weltweit in allen Klimazonen verbreitet. In Ost- und Südeuropa ist der Gemeine Stechapfel (*Datura stramonium*) ein bekanntes Ackerunkraut und ist häufig in Hirse-, Buchweizen- und Maisfeldern anzutreffen. Er findet dort gute Entwicklungsbedingungen und wird von vielen Herbiziden nicht ausreichend erfasst. Demzufolge kann er sowohl in biologischen als auch in konventionellen landwirtschaftlichen Anbausystemen vorkommen. Die Stechapfelpflanze wird zeitgleich mit der Hirse reif und weil die Pflanzen bei der Ernte die gleiche Höhe

haben, kann das Unkraut mitgeerntet werden. Eine einzige Stechapfelpflanze kann in ihren charakteristischen stacheligen Samenkapseln bis zu 20'000 Samen enthalten. Wenn sich die Samen ähneln - wie im Falle von Stechapfel und Hirse bzw. Buchweizen – nimmt das Risiko einer Getreideverunreinigung zu. Werden solche Agrarkontaminanten während der Getreideverarbeitung nicht ausreichend entfernt, können Tropanalkaloide in getreidebasierten Lebensmittel eingetragen werden. Untersuchungen haben gezeigt, dass Atropin und Scopolamin nur teilweise beim Backen (13-28% Verlust) und Kochen (40-60% Verlust) abgebaut werden. Atropin und Scopolamin werden aus dem Magen-Darm-Trakt leicht resorbiert, weitgehend in das Gewebe rasch verteilt und vorwiegend unverändert über den Urin ausgeschieden (Harnexkretion $\geq 30\%$). Auch über die Schleimhäute und die Haut werden sie sehr gut aufgenommen. Expositionen von Menschen durch Verzehr von Tropanalkaloid-kontaminierten tierischen Lebensmitteln (carry-over) sind bislang nicht erwähnt worden, obwohl Vergiftungen von Nutztieren durch mehrheitlich Stechapfelsamen-verunreinigte Futtermittel auf Basis von Getreiden und Ölsaaten rapportiert wurden.



Die vierfährigen Samenkapsel der Stechapfelpflanze mit den braunen bis schwarzen Samen

Die in Europa erste öffentlich bekannte Massenvergiftung mit Tropanalkaloiden fand im Jahr 2003 in Slowenien statt. Dabei sind 73 Menschen nach der Einnahme von überwiegend selbstgemachten Buchweizenmehl-haltigen Speisen erkrankt. In den implizierten Buchweizenprodukten und -Speisen wurden Tropanalkaloidverunreinigungen im Bereich von 30 bis 26'000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ Atropin und von 45 bis 12'000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ Scopolamin nachgewiesen. Die Rohstoffe aus Tschechien und Ukraine waren mit 7-190 Stechapfelsamen pro kg Buchweizenkörner kontaminiert. In Österreich zeigten im Jahr 2006 sieben Personen Vergiftungserscheinungen nach dem Verzehr eines mit Stechapfelsamen kontaminierten Hirsegerichts. Die betroffenen Hirsekörner enthielten 50 Stechapfelsamen pro kg. Nachdem die österreichischen Lebensmittelaufsichtsbehörden in 2006 innert wenigen Monaten mehrere Hirseprodukte unterschiedlicher Hersteller aufgrund von Stechapfelsamenbefunden aus dem Handel nehmen mussten, wurde in Österreich eine bundesweite Schwerpunktskontrolle von feinkörnigem Getreide durchgeführt. Fünf von 72 untersuchten Hirseproben (7%) mussten im Rahmen dieser Schwerpunktsaktion wegen des Nachweises von Stechapfelsamen beanstandet und die Waren vom Markt zurückgenommen werden. Das österreichische Gesundheitsministerium hat daraufhin einen Grenzwert von drei Stechapfelsamen pro kg Hirse definiert. Die getreideverarbeitende Industrie hat in der Folge Massnahmen eingeführt um die Rohwarenüberwachung und Getreidereinigung zu optimieren. Zwischen 2009 und 2013 folgten im Schnellwarnsystem der EU (RASFF - The Rapid Alert System for Food and Feed) weitere gelegentliche Meldungen über Buchweizenmehle, welche mit Tropanalkaloiden verunreinigt waren (24-157 $\mu\text{g}/\text{kg}$ Atropin + Scopolamin). Die Rohwaren stammten aus Ungarn, Slowenien, Tschechien und der Slowakei. Seit Ende 2014 wurden wiederholt Warnmeldungen über zu hohe Gehalte an Tropanalkaloiden in Hirse- und Maisprodukten ins EU-Schnellwarnsystem eingestellt. Die kontaminierten Getreideprodukte wiesen 4 - 481 $\mu\text{g}/\text{kg}$ Atropin und 12 - 1014 $\mu\text{g}/\text{kg}$ Scopo-

lamin auf. Die Rohwaren kamen aus Österreich, Ungarn und Deutschland. Das Bundesamt für Lebensmittelsicherheit und Veterinärwesen in der Schweiz (BLV) hat in der Periode Dezember 2014 bis April 2015 sechs entsprechende Warnungen veröffentlicht. In dem Zusammenhang wurden insgesamt zehn Hirse- und Maisprodukte aus mehrheitlich biologischem Anbau vom schweizerischen Markt genommen und in zwei Fällen davon wurde das Produkt zurückgerufen.

Neben Samen und Beeren können auch andere Pflanzenteile von Tropanalkaloid-haltigen Arten wie Stängel, Blätter, Knospen oder Blüten als Verunreinigungen in Lebensmitteln vorkommen. Die Einnahme von Kräutertees wie Klettenwurzel-, Brennessel-, Eibisch-, Beinwell- und Mate-Tees wurden mehrfach in Verbindung mit den klassischen Symptomen einer Tropanalkaloid-Vergiftung gesetzt. In vielen Fällen konnten die vermuteten toxischen Stechapfel-, Tollkirsche- bzw. Bilsenkrautbestandteilen jedoch nicht identifiziert werden. Die komplexe Zusammensetzung von solchen Therapie- und Heilpflanzenteemischungen erschwert die Bestimmung von pflanzlichen Kontaminanten.

Untersuchungsziele

In dieser Kampagne haben wir Getreideprodukte sowie kräuterbasierte Tees und Nahrungsergänzungsmittel ohne Vorgabe zur Herkunft untersucht. Da biologische Mais- und Hirseprodukte in jüngster Zeit durch mehrfache Produktrücknahmen aufgefallen sind, lag ein besonderer Fokus auf derartigen Getreideprodukten. Heilpflanzen- und Kräuter-basierte Tees und Nahrungsergänzungsmittel stellten den zweiten Schwerpunkt dieser Kampagne dar.

Gesetzliche Grundlagen

Tropanalkaloide sind noch nicht spezifisch geregelt in Lebensmitteln. In der Schweiz bestimmt das Lebensmittelgesetz (Art. 13, Abs. 1), dass Nahrungsmittel bei ihrem üblichen Gebrauch die Gesundheit nicht gefährden dürfen. Die europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA) hat 2013 einen gesundheitsbezogenen Richtwert veröffentlicht: Diese akute Referenzdosis (ARfD) ist jene Menge einer Substanz pro Kilogramm Körpergewicht, die über die Nahrung mit einer Mahlzeit oder innerhalb eines Tages ohne erkennbares Risiko für die VerbraucherInnen aufgenommen werden kann. Für Atropin und Scopolamin liegt die ARfD bei 0,016 µg pro Kilogramm Körpergewicht bezogen auf die Summe von (S)-Hyoscyamin und (S)-Scopolamin (Gruppen-ARfD). Das deutsche Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) kommt in seiner Bewertung der EFSA-Stellungnahme zu Tropanalkaloiden in Lebens- und Futtermitteln zu dem Schluss, dass die Gruppen-ARfD eine adäquate Basis für eine Bewertung gesundheitlicher Risiken durch mögliche Expositionen gegenüber Tropanalkaloid-Kontaminationen in Lebensmitteln darstellt. Der Schweregrad einer möglichen gesundheitlichen Beeinträchtigung wird bei zwei- bis fünffacher Überschreitung der ARfD für gesunde Menschen als leicht bis mittelschwer, für Menschen, die an bestimmten Erkrankungen wie Herz-Kreislauf-Beschwerden leiden, aber als unter Umständen schwer eingeschätzt. Die EFSA zieht das Fazit, dass die Gruppen-ARfD bei Kleinkindern durch den Verzehr von Getreideprodukten um das bis zu siebenfache überschritten werden kann. Es wird auf europäischer Ebene derzeit ein Grenzwert für Baby- und Kleinkindernahrung auf Getreidebasis diskutiert. Vorgeschlagen ist ein summarischer Höchstgehalt für Atropin und Scopolamin von 5 µg/kg sowie Anforderungen an die analytischen Bestimmungsgrenzen für Tropanalkaloide.

Ein Grenzwert bezogen auf Anzahl Stechapfelsamen pro kg Getreide, ähnlich wie es die Behörden in Österreich definiert haben, ist in der Praxis nur teilweise geeignet. Eine toxikologisch relevante Tropanalkaloidkontamination kann anhand von der Anzahl an Fremdsamen alleine nicht überprüft werden, da diese im Endprodukt oft nicht mehr identifizierbar sind. Gemäss Literaturangaben wurden in Stechapfelsamen bis zu 0.7% Gesamtgehalt an Tropanalkaloide (7 mg/g) nachgewiesen. Ein Stechapfelsamen wiegt etwa 8 mg und kann somit bis zu 56 µg Tropanalkaloide enthalten. Ein einziger Stechapfelsamen kann demnach ausreichen um 1 kg Getreide mit Tropanalkaloiden zu verunreinigen und die akute Referenzdosis zu überschreiten.

Prüfverfahren

Wir haben eine neue Methode implementiert um Atropin und Scopolamin in Lebensmitteln und Nahrungsergänzungsmitteln quantitativ bestimmen zu können. Die Substanzen werden mit einem sauren Wasser-Methanol-Gemisch aus der Matrix extrahiert und unlösliche Anteile abzentrifugiert. Der Überstand wird anschliessend verdünnt, filtriert und mittels LC-MSMS analysiert. Die Quantifizierung erfolgt mithilfe von isotoptmarkierten internen Standards. Die Bestimmungsgrenzen für Atropin und Scopolamin betragen jeweils 1 µg/kg. Die Methode wurde durch Analysen von Referenzmaterialien (getreidebasierte Lebens- und Futtermittel) aus zwei Laborkompetenztests validiert.

Ergebnisse und Massnahmen

In 11 verschiedenen Basler Geschäften (Supermarkt, Drogerie, Kaufhaus, Apotheke, Reformhaus, Teeladen, Getränkefachhandel) wurden 51 Lebensmittel und Nahrungsergänzungsmittel erhoben. Dabei handelte es sich vorwiegend um gemahlene und nicht-gemahlene Bio-Getreideerzeugnisse aus Hirse, Buchweizen und Mais (Körner, Flocken, Griess, Mehl, Brot, Cracker). Sämtliche 30 Getreideprodukte stammten aus biologischem Anbau, wovon sieben zusätzlich als glutenfrei gekennzeichnet waren. Daneben wurden diverse Kräutertees (Beinwell-, Nessel-, Eibischwurzel-, Klettenwurzel-, Mate-Tee) und Kräuterteemischungen sowie getrocknete Heilpflanzen und Nahrungsergänzungsmittel aus Heilkräutern (Tabletten, Kapseln, Tinktur) erhoben.

Herkunft	Anzahl Proben	Produktkategorie	Anzahl Proben
Bulgarien	1	Backwaren	2
Frankreich	1	Heilkräuter getrocknet	3
Kanada	1	Mateprodukte	4
Marokko	1	Maisprodukte	5
Polen	1	Nahrungsergänzungsmittel	6
Schweden	1	Tees	8
Europa	2	Buchweizenprodukte	10
Italien	2	Hirseprodukte	13
Ukraine	2		
China	3		
Österreich	4		
unbestimmbar	5		
Ungarn	5		
Schweiz	10		
Deutschland	12		
Total	51		51

Unter den geprüften Hirseerzeugnissen befanden sich vier Produkte, die aus ganzen Hirsekörnern bestanden. Ein geschältes Bio-Hirse Kornprodukt wies 40 µg/kg Atropin und 12 µg/kg Scopolamin auf. Die Lebensmittelrechtliche Beurteilung der kontaminierten Ware erfolgte auf Basis der Gruppen-ARfD unter Berücksichtigung der vom Hersteller vorgegebenen Verzehrsmenge: Bei einem Körpergewicht von 60 kg wäre eine Dosis von 1 µg bereits als eine Überschreitung der ARfD zu beurteilen. Das Kochrezept dieses Produktes sieht den Konsum von 50 g Hirsekörnern pro Person vor. Die Einnahme von 50 g Hirsekörnern kontaminiert mit 52 µg/kg Tropanalkaloiden entspricht einer Dosis von 2,5 µg und ist somit 2,5-fach höher als die akute Referenzdosis. Die Probe wurde als nicht-sicher beurteilt, beanstandet und die zuständige Firma zu Korrekturmaassnahmen angehalten. Der Warenbesitzer nahm umgehend den Restbestand der betroffenen Charge aus dem Verkauf und kontaktierte seinen Lieferanten. Die verantwortliche Getreidemühle

hatte kurz vor unserer Kampagne ihre Selbstkontrolle optimiert. Konkret hat der Betrieb die Rohware vor der Verarbeitung auf Tropanalkaloide untersucht. Dabei wurden in der betroffenen Charge Spuren von Tropanalkaloiden (6 µg/kg) in der manuell gewonnenen Sammelprobe nachgewiesen – also ca. 9 mal weniger als unser Befund (52 µg/kg) in der für Endverbraucher erhältlichen Einzelpackung von 500 g. Dieses Ergebnis zeigt wie entscheidend das Vorgehensweise ist bei der Probenahme von Getreidechargen. Agrarkontaminanten sind vor allem in unverarbeiteten Getreideerzeugnissen sehr heterogen verteilt. Wenige Stechapfelsamen können eine erhebliche punktuelle Kontamination verursachen, die ohne ein ausgeklügeltes Verfahren zur Erzeugung einer repräsentativen Probe unentdeckt bleibt. Die betroffene Getreidemühle hat inzwischen weitere Massnahmen getroffen um die Rohwarenreinigung und Selbstkontrolle zu verbessern. Unterdessen sind Bestrebungen in die Wege geleitet um die Anlagen zum optischen Aussortieren der Unkrautsamen zu optimieren sowie die bisher manuell durchgeführte Probenahme durch ein automatisches zeitgesteuertes Probenahmeverfahren für die Herstellung einer repräsentativen Probe zu ersetzen.

In allen anderen untersuchten Getreideprodukten konnten keine Tropanalkaloide nachgewiesen werden. Sämtliche kräuterbasierten Produkte waren ebenfalls unauffällig.

Schlussfolgerungen

Die Tropanalkaloid-Analytik erweitert unsere Aktivitäten im Themenbereich akute Vergiftungen, welche auf natürliche Toxine zurückzuführen sind. Bei Bedarf kann die vorliegende Methode für den quantitativen Nachweis von Tropanalkaloiden in Körperflüssigkeiten von exponierten Personen, wie z.B. Urin, angewendet werden. Somit können auch Vergiftungsfälle, bei denen keine Verdachtsproben vorhanden sind, innert weniger Stunden abgeklärt werden.

In der vorliegenden Kampagne erfolgte die Probenerhebung risikobasiert. Demzufolge deutet die niedrige Beanstandungsquote der untersuchten Getreideprodukte an, dass Tropanalkaloid-Verunreinigungen entweder selten auftreten oder dass die jüngsten Vorstösse der getreideverarbeitende Branche zur Dekontamination und Überwachung von Getreideerzeugnissen bereits wirksam waren. Der Befund von 52 µg/kg Tropanalkaloiden in einem Hirsekornprodukt weist jedoch auf eine relevante aber wahrscheinlich punktuell aufgetretene Kontamination hin, die vom Hersteller nur mit sorgfältigem Monitoring während der Produktion aufgespürt werden kann. Tropanalkaloid-Verunreinigungen scheinen erfreulicherweise in Kräutertees, getrockneten Heilpflanzen und Nahrungsergänzungsmitteln aus Heilkräutern nicht von Bedeutung zu sein. Das Kantonale Laboratorium Basel-Stadt wird mit weiteren Kontrollaktionen die Situation verfolgen.