

PYRROLIZIDINE ALKALOÏDE IN CONSUMPTIE THEE



Gratis
Extract



Scienta nova
Laurier 44
8101 HM Raalte
+31 (0)572 373488
www.scientanova.com
info@scientanova.com

Opgesteld door:
Thymon Maarsen
In opdracht van:
Scienta nova

November 2014



Voorwoord/samenvatting

Dit onderzoek is opgezet naar aanleiding van berichtgeving in juni 2013 van het BfR (Bundesinstitut für Risikobewertung) inzake de aanwezigheid van PA (Pyrrolizidine alkaloiden) in kruidenthee die verkrijgbaar is in Duitsland. Hierop heeft Scienta nova een onderzoeksprotocol opgesteld om een indicatie te krijgen wat de situatie is met de in Nederland verkrijgbare kruidenthee soorten. Het betreft een indicatief en geanonimiseerd onderzoek van kruidenthee monsters verkrijgbaar in reformwinkels en supermarkten. Dit onderzoek is uitgevoerd door Thymon Maarsen. Momenteel werkzaam bij Scienta nova als 4^ejaars stagiair Voedingsmiddelentechnologie.

Naar aanleiding van deze uitkomsten en de reacties van de betrokken partijen, blijkt dat PA veel aandacht heeft. Echter de verwarring is groot over de te hanteren wet- en regelgeving die toegepast moet worden.

De resultaten van dit geheel door Scienta nova gefinancierde onderzoek zijn vooraf besproken met de betrokken (Nederlandse) partijen en hieruit blijkt zondermeer dat men serieus met deze materie omgaat. Hiermee lijkt bevestigd dat de Nederlandse voedingsmiddelen industrie deskundig en integer met dergelijke zaken omgaat.

Wij bevelen theeproducenten wel aan om hun risicobeoordeling aan te passen en zo nodig verdere acties te ondernemen, zoals het uitvoeren van een waterdichte leveranciersbeoordeling. In paragraaf 1.3.4 worden specifiek enkele aanvullende beheersmaatregelen genoemd. Daarnaast vinden wij het noodzakelijk dat er een breed en representatief onderzoek uitgevoerd wordt in de kruiden theesoorten. Wellicht is het verstandig om het pesticiden onderzoek ook van toepassing te laten zijn op de theesoorten die uit Azië komen.

Leidend in onze conclusies waren de aanbevelingen die door de EFSA op dit gebied zijn gemaakt en de Codex Alimentarius.

Dit rapport bevat veel informatie voor bedrijven die thee samenstellen, verpakken of importeren. Scienta nova beschouwt dit (stage)onderzoek als afgerond en staat open om een vervolgonderzoek te ondersteunen.

Voor nadere informatie omtrent de opzet van dit onderzoek en de bronnen kunt u contact met ondergetekende opnemen.

Extract opmerking: In dit extract zijn inhoudelijke hoofdstukken verkleind en selectief ingevoegd. Aangepaste hoofdstukken zijn te herkennen aan de blauwe rand. Het volledige rapport is te bestellen via: www.sciantanova.com, Prijs: €85,-.

Raalte, 17 november 2014

IJsbrand Velzeboer
Directeur



Originele inhoudsopgave van het hoofdrapport

Inleiding	4
1 Achtergrond.....	5
1.1 Toxiciteit	5
1.2 Wetgeving.....	6
1.3 Interpretatie Warenwetbesluit	7
2 Methode van aanpak	9
3 Resultaten	11
4 Conclusies en aanbevelingen.....	14
5 Discussie	15
5.1 Opmerkingen	16
5.2 Producenten	17
6 Begrippenlijst.....	18
7 Literatuur.....	19
Bijlage I: Lijst van pesticiden waarop onderzocht is.....	20



Inleiding

Kruiden worden over het algemeen als relatief veilig beschouwd. Vaak zijn ze gedroogd, nog levend aan de plant of getrokken in sterk alcohol. Microbieel bederf is daarom erg onwaarschijnlijk en als er iets op groeit zijn het vaak goed zichtbare schimmels, die hopelijk onschuldig van aard zijn.

Het is echter wel mogelijk dat de betreffende plant toxines bij zich draagt. Toxines kunnen op allerlei manieren terecht komen in een product, denk daarbij aan toxines gevormd door micro-organismen of die als gevolg van residuen van pesticiden. Maar ook toxines gevormd door de plant of planten in de omgeving van de te oogsten plant. Een bekend voorbeeld van zo'n plant is het Jacobs kruiskruid (*Senecio jacobaea*). Deze kunnen eenvoudig en ongemerkt in het proces terechtkomen tijdens het oogsten, via zaden of kruisbesmetting.

Dit onderzoek richt zich op de toxines gevormd door planten en residuen van pesticiden.

Veel kruiden die verwerkt worden in thee zijn afkomstig uit de voormalige Oostblok landen. De kruiden groeien vaak aan de rand van akkers. Hier worden ze geoogst en later verder verwerkt, door de locatie is het goed mogelijk dat residuen van pesticiden (gespoten over het akkerland) terecht komen op de kruiden.

Een veel voorkomend soort plantaardige toxine is de zogenaamde pyrrolizidine alkaloïde groep (vanaf hier afgekort tot: PA), hiervan zijn inmiddels honderden verschillende soorten vastgesteld voorkomend in duizenden planten. Ongeveer de helft van deze groep is met name schadelijk voor de lever en zou daarom maar in zeer beperkte mate mogen voorkomen in levensmiddelen. Uit onderzoek is gebleken dat sommige PA houdende planten en geïsoleerde PAs kanker kunnen veroorzaken in knaagdieren, er zijn geen aanwijzingen dat dit voor mensen niet geldt. ^[12]

Ziekte door het consumeren van PAs is redelijk zeldzaam en vaak het gevolg van overmatig gebruik van bijvoorbeeld medicinale kruiden. Grote uitbraken in de jaren 70 van de vorige eeuw zijn er echter wel geweest in noordwest Afghanistan^[9] en centraal India^[18] als gevolg van droogte. Het zaad van een PA houdende plant besmette hier de voedselvoorraad. Ook in Tadzjikistan is een uitbraak geweest. PA gerelateerde ziekte kwam in Zuid-Amerika vaak voor door onvoldoende educatie en identificatie van giftige planten. Over de hele wereld worden enkel nog sporadisch patiënten hiervoor opgenomen, blijkt uit een publicatie uit 1999. ^[12]

Enkele symptomen zijn: misselijkheid, braken, diarree, verschillende soorten buikpijn, leverklachten, koorts, geelzucht, longoedeem, longschade en nierfalen. Als de patiënt lang doorgaat met het consumeren van PAs of in extreem hoge dosis kan uiteindelijk de dood intreden. ^[13,20,24,11]

Onderzoeksvragen van dit rapport:

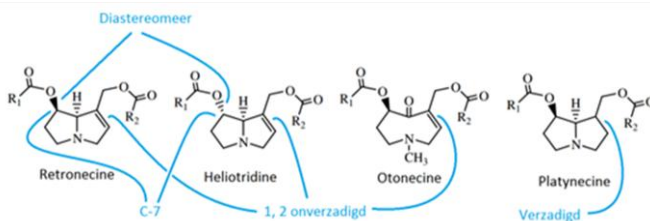
1. *Wat is er in de literatuur bekend over pyrrolizidine alkaloïde?*
2. *Wat is de wetgeving omtrent pyrrolizidine alkaloïde in (kruiden)thee?*
3. *Hoeveel pyrrolizidine alkaloïde is aanwezig in (kruiden)thee?*
4. *Vormt eventueel besmette thee een risico voor de volksgezondheid?*



Toxiciteit

Uit onderzoek is gebleken dat met name de eerste drie genoemde types toxisch zijn (retronecine, heliotridine en otonecine) dit zijn de groepen met een 1,2-onverzadigde necine structuur en een C₅-carbonzuur (Fout! Verwijzingsbron niet gevonden.)^[1].

In planten worden PAs vaak gesynthetiseerd naar de bijbehorende stikstofoxide vorm (afgekort als: PA NO_x), PAs van het type otonecine uitgezonderd. PAs zijn semi-polair tot polair en daarom redelijk in water oplosbaar^[5]. PA NO_x zijn polair en daarom goed in water oplosbaar^[5]. Gedurende de stofwisseling worden PAs omgezet naar een stof die een onverzadigde heterocyclische ring bevat, dit worden pyrroolderivaten genoemd. Deze pyrrolen zijn zeer reactief, door alkylering (reactie tussen een alkylgroep en een ander molecuul) binden ze zich aan nucleofiele groepen (reageert makkelijk met een elektrofiel deeltje) van nucleïnezuur (waaronder DNA) en eiwitten. De ontstane adducten zijn actief toxisch en veroorzaken de klachten die zijn gelinkt aan PAs in dierproeven^[10]; hepatotoxiciteit, hepatocarcinogeen en mutagene effecten^[1].



Figuur 1: Structuurformule van de vier belangrijke PAs^[1], met toegevoegde toelichting.

Methode van aanpak

Wij hebben ons beperkt tot één reformzaak en twee supermarkten.

De bepaling is bewerkelijk en moet nauwkeurig worden uitgevoerd. Om deze reden wordt een gespecialiseerd extern lab ingeschakeld. Het laboratorium dat hiervoor is ingezet betreft Eurofins, Dr. Specht in Hamburg, BRD. De analyse wordt uitgevoerd met de LC-MS/MS (Liquid chromatography–mass spectrometry) methode.

Ook wordt er getest door het lab op aanwezigheid van de volgende pesticidesoorten:

Organostikstof pesticides, organochloor pesticides (pyrethroïde), organofosfor pesticides, QuEChERS LC-XL-GHT. De volledige lijst is te vinden in het hoofdrapport.

Interpretatie Warenwetbesluit

Uit onderzoek is gebleken dat een persoon veilig maximaal 0,42 nanogram PA per kilogram lichaamsgewicht per dag kan consumeren. Vanuit deze VSD heeft de NVWA een norm opgesteld, deze stelt dat kruidenpreparaten 1 microgram PA per kilogram of liter product mag bevatten. Dus volgens de NVWA is het product bij normaal gebruik veilig te consumeren bij deze hoeveelheid, maar als er meer PA inzit dan 1 microgram per kilogram of liter product loopt de consument gevaar. Echter wordt er nergens beschreven onder welk Warenwetbesluit thee precies valt. Mogelijkheden zijn: Warenwetbesluit Kruidenpreparaten, Warenwetbesluit Kruiden en specerijen. De volgende vraag is of er naar de concentratie in droge thee moet worden gekeken of naar die van gezette thee.

Extra scenario

Er is echter ook nog een derde scenario mogelijk. Thee valt onder Warenwetbesluit Kruiden en specerijen of geen van de Warenwetbesluiten. Het aanwezig zijn van PAs wordt dan enkel geregeld in de 'General food law', ook bekend als EU verordening 178/2002. Artikel 14 van deze verordening stelt de producent verantwoordelijk te zorgen dat zijn producten veilig zijn. De producent moet in dit geval zelf het risico bepalen en beheersen. Dit kan aan de hand van bekende wetenschappelijke literatuur of een eigen onderzoek. De producent moet bijvoorbeeld zelf een veilige norm vaststellen of kunnen borgen dat het risico niet voor zijn product van toepassing is, dan wel zorgen dat het risico niet in zijn product kan voorkomen. In dit geval gaat het om de concentratie PA in de thee, er zijn verschillende 'goede' beheersmaatregelen voor dit risico.



Resultaten

In geen van de onderzochte producten zijn pesticiden aangetroffen, wel zijn er PAs gevonden.

Wat opvalt is dat tenminste één product van ieder onderzochte theeproducenten PAs bevat.

In **Tabel 2** Fout! Verwijzingsbron niet gevonden. is, in het eerste gedeelte, de aanbevolen hoeveelheid per onsmptie weergegeven, bijvoorbeeld één zakje á 2 gram in een theekopje á 125 ml (er kan terecht worden opgemerkt dat thee vaker in 200 ml bekert wordt gedronken, echter zijn wij uitgegaan van de 'worst-case scenario'). Deze gegevens zijn afkomstig van de consumentenverpakkingen. In het tweede gedeelte wordt de aanbevolen hoeveelheid omgerekend naar één liter.

De gestelde norm van het NVWA is 1µg/l preparaat. (Warenwetbesluit Kruidenpreparaten^[23])

Producten die deze norm overschrijden staan in rood weergegeven.

Conclusies en aanbevelingen

Er zijn onverwacht hoge concentraties PA aangetroffen in de kruidenthee. Hoewel het onwaarschijnlijk is dat de consument symptomen krijgt door het consumeren van de geteste thee, is er wel degelijk een risico als er naast grote hoeveelheden van de thee ook nog andere besmette producten worden geconsumeerd.

Aanbevelingen

Scienta nova beveelt daarom de consument nogmaals aan vooral gevarieerd te eten en te drinken - zoals aanbevolen wordt in het boek 'Ons voedselbombardement'-, zodat constante besmetting door één product kan worden uitgesloten^[21].

Discussie

De aangeschreven producenten hadden hoge concentraties PA in hun product. Ze zijn allemaal wel op de hoogte van PAs en worden door hun branchevereniging geadviseerd. Om er naar hun kennis ook op de controleren. Het is echter moeilijk om bijvangst te voorkomen en analyses zijn erg duur, hierdoor wordt er niet altijd gecontroleerd bij theesoorten waar PAs niet verwacht worden. Verder raden ze allemaal aan om te variëren in thee soort, of hebben het plan dit te gaan doen. De uitgewerkte antwoorden zijn te vinden in Hoofdstuk 5.2.



Opmerkingen

- In dit rapport is uitgegaan van een 'worst-case scenario' wat PA opname betreft. Dit houdt in:
 - o Alle PA in de droge thee lost op in de gebruiksklare thee. Er zijn verschillende onderzoeken gedaan naar gezette thee en naar droge thee, deze twee zijn naar onze kennis nooit tegelijk uitgevoerd om het extractrendement te bepalen. Wel is duidelijk dat er minimaal een fractie op moet lossen in gezette thee. Want, in onder andere, onderzoek gedaan naar thee op de Zwitserse markt zijn PAs aangetroffen in normaal gezette thee^[8].
 - o Alle PA wordt opgenomen door het lichaam
 - o Een theekopje bevat 125 ml, er kan terecht worden opgemerkt dat thee vaker in 200 ml bekers wordt gedronken, echter zijn wij uitgegaan van de 'worst-case scenario'.
- Kruidenpreparaat wordt geïnterpreteerd als gebruiksklare thee (Hoofdstuk 1.3).
 - o De onduidelijkheid aangaande de interpretatie van theeproducten in het Warenwetbesluit Kruidenpreparaten geeft veel ruimte voor producenten om te kiezen voor de ruimste definitie, dit kan ertoe leiden dat de consument erg hoge concentraties PA binnenkrijgt, zonder dat de norm op papier wordt overschreden.
 - o Aan de hand van de berekening hiernaast is het waarschijnlijk dat deze interpretatie niet degene is die de NVWA voor ogen had. Het is immers onwaarschijnlijk dat de consument slechts 30 ml thee per dag zou drinken.
 - o Als een kruidenpreparaat wordt geïnterpreteerd als droge thee wordt de NVWA norm door meer producenten ernstig overschreden, in dit geval komen namelijk de berekeningen van **Tabel 2** te vervallen en is de totaal rij van **Tabel 1** de eindwaarde in $\mu\text{g PA/kg}$ kruidenpreparaat. De maximaal aangetroffen concentratie PA komt in dat geval uit op $251 \mu\text{g PA/kg}$, een normoverschending van maar liefst 25100%.
- Alle PAs geanalyseerd in dit onderzoek kunnen worden opgeteld tot één totaalconcentratie.
 - o Uit nader onderzoek kan blijken dat niet alle PAs even gevaarlijk zijn. Voor zolang deze informatie onbekend is, is het verstandig om van het ergste geval uit te gaan.
- We hebben ook de NVWA aangeschreven om te vragen onder welke wetgeving thee valt, hier kon niet direct antwoord op worden gegeven en het antwoord moet nog komen. Wel is aangegeven dat het ingetrokken Theebesluit inderdaad niet meer geldt en dat in elk geval de General food law van kracht is.

Herhaling van twee interpretaties van de regelgeving (Hoofdstuk 1.3)

Doel: De consument mag niet meer dan de VSD binnenkrijgen bij normale dagelijkse consumptie, hiervoor is een norm bepaald door de NVWA:

NVWA Norm = $1 \mu\text{g PA/kg}$ kruidenpreparaat

VSD = $0,43 \text{ ng/kg LG/dag}$

Persoon = $70 \text{ kg}^{[17]}$

VSD Persoon = $0,43 \times 70 = 0,03 \mu\text{g/dag}$

Eén theezakje = 2 gram ($0,002 \text{ kg}$)

Eén theekopje = 125 ml ($8 \text{ kopjes} = 1 \text{ liter}$)

Als kruidenpreparaat = gebruiksklare thee

$0,03/1 = 0,03 \text{ liter}$ thee, met maximaal toegestane hoeveelheid PA voordat de VSD wordt bereikt.

De consument zou dus maar **30 ml thee** per dag mogen drinken zonder verhoogd risico te lopen.

Als kruidenpreparaat = droge thee

$0,002/1 = 0,002 \mu\text{g PA}$ mag er in het theezakje zitten

$8 \times 0,002 = 0,016 \mu\text{g PA}$ per liter gebruiksklare thee

$0,03/0,016 = 1,88 \text{ liter}$ thee, met maximaal toegestane hoeveelheid PA voordat de VSD wordt bereikt.

In dit geval zou de consument dus **1,88 liter thee** per dag mogen drinken zonder verhoogd risico te lopen.



Begrippenlijst

BfR	B undesinstitut für R isikobewertung
EFSA	E uropean F ood S afety A uthority
LC-MS/MS	L iquid C hromatography- M ass S pectrometry/ M ass S pectrometry
LOQ	L imit of Q uantification (detect)
MOE	M argin of E xposure (detectielimiet van het lab)
NOx	Stikstof O xide
NVWA	N ederlandse V oedsel- en W aren A utoriteit
PA	P yrrolizidine A lkaloiden
QuEChERS	Q uick, E asy, C heap, E ffective, R ugged, and S afe
TDI	T oelaatbare D agelijkse I nnome
VOD	V eno- O cclusive D isease
VSD	V irtually S afe D ose



Literatuur

1. Bundesinstitut für Risikobewertung, *Pyrrrolizidinalkaloïde in Kr utertees und Tees*, Stellungnahme 018/2013, **2013**.
2. Chou, M.W., Wang, Y.-P., Yan, J., Yang, Y.-C., Beger, R.D., Williams, L.D., Doerge, D.R., and Fu, P.P., *Riddelliine N-oxide is a phytochemical and mammalian metabolite with genotoxic activity that is comparable to the parent pyrrrolizidine alkaloid riddelliine*, *Toxicol. Lett.*, 145, 239, **2003**.
3. Codex Alimentarius Commission, *Discussion Paper on Pyrrrolizidine Alkaloid*, CX/CF 11/5/14, Februari **2011**.
4. Danninger, T., Hagemann, U., Schmidt, V., Sch onh ofer, P. S. *Zur Toxizit t Pyrrrolizidinalkaloidhaltiger Arzneipflanzen*. *Pharmazeutische Zeitung* **1983**, 128 (6), 289-303.
5. European Food Safety Authority, *Scientific Opinion on Pyrrrolizidine alkaloids in food and feed*, *EFSA Journal* 9(11):2406, **2009**.
6. Griffin, C. T., Gosetto, F., Danaher, M., Sabatini, S., Furey, A., *Investigation of targeted pyrrrolizidine alkaloids in traditional Chinese medicines and selected herbal teas sourced in Ireland using LC-ESI-MS/MS.*, *Food Additives & Contaminants: Part A*, **2014**, Vol. 31, No. 5, 940–961
7. Hartmann, T., Witte, L. *Chemistry, biology and chemoecology of pyrrrolizidine alkaloids*. *Alkaloids: chemical and Biological Perspectives*, **1995**, 9, 155-233.
8. Mathon, C., Edder, P., Bieri, S., Christen, P., *Survey of pyrrrolizidine alkaloids in teas and herbal teas on the Swiss market using HPLC-MS/MS.*, *Anal Bioanal Chem* (**2014**) 406:7345–7354
9. Mohabbat, O., Younos, M.S., Merzad, A.A., Srivastava, R.N., Sediq, G.G., Aram G.N., *An outbreak of hepatic veno-occlusive disease in north-western Afghanistan*. *Lancet*, 2 (7980) (**1976**), pp. 269–271.
10. NTP Technical Report, *Toxicity Studies of Riddelliine administered by gavage to F344/N rats and B6C3P1 mice*. NIH Publication No. 94-3350, **1992**.
11. Plant poisoning - Pyrrrolizidine alkaloids, wrongdiagnosis.com
12. Prakash, A. S. Pereira, T. N. Reilly, P. E. B. Seawright, A. A. *Pyrrrolizidine alkaloids in human diet*. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*. Volume 443, Issues 1–2, 15 July **1999**, Pages 53–67.
13. Rizk, Abdel-Fattah M., *Naturally Occurring Pyrrrolizidine Alkaloids*. Doah: CRC Press, **1990**
14. Roeder, E. *pyrrrolizidinalkaloidhaltige Arzneipflanzen*. *Deutsche Apotheker Zeitung* **1992**, 45 (132), 2427-2435.
15. Smith, L. W., Culvenor, C. C. J. *Plant sources of hepatotoxic pyrrrolizidine alkaloids*. *J. Nat. Prod.* **1981**, 44, 129-15
16. Stegelmeier, B.L., Edgar, J.A., Colegate, S.M., Gardner, D.R., Schoch, T.K., Coulombe, R.A., and Molyneux, R.J., *Pyrrrolizidine alkaloid plants, metabolism and toxicity*, *J. Nat. Toxins*, 8, 95, **1999**.
17. Strikwold, M. Lecturer and PhD researcher in Toxicology, LS&T Leeuwarden, oktober 2014
18. Tandon, B.N., Tandon, H.D., Tandon, R.K., Narndranathan, M., Joshi, Y.K.,. *An epidemic of veno-occlusive disease of liver in central India*. *Lancet*, 2 (7980) (**1976**), pp. 271–272
19. Teuscher, E., Melzig, M. F., Lindequist, U. *Biogene Arzneimittel*; Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart: **2007**; Vol. 6.
20. U.S. Food & Drug Administration, *Bad Bug Book*. Pyrrrolizidine Alkaloids., 17 Sep, **1998**. Web. 3 November
21. Velzeboer, IJ. *Ons voedselbombardement*. november **2013**, Raalte. ISBN: 978-90-810612-0-9
22. Voedsel en Waren Autoriteit, *Pyrrrolizidine alkaloiden in honing*, **2007**.
23. Voedsel en Waren Autoriteit, *Warenwetbesluit Kruidenpreparaten*. 19 januari **2001**.
24. World Health Organization, *Environmental Health Criteria 80*. Geneva: World Health Organization, **1988**.
25. Xia, Q., Chou, M. W., Edgar, J. A., Doerge, D. R., Fu, P. P., *Formation of DHP-derived DNA adducts from metabolic activation of the prototype heliotridine-type pyrrrolizidine alkaloid, lasiocarpine*. *Cancer Lett* **2006**, 231 (1), 138-145.