



# **Auswirkungen der Verarbeitung auf Gehalte an Marinen Biotoxinen in Muscheln**

Angelika Preiß-Weigert

# Zusammenfassung



1. Nationales Referenzlabor für Marine Biotoxine
2. Marine Biotoxine
3. EU Vorgaben:  
Höchstmengen und Nachweismethoden
4. Einfluss durch Bearbeitungsprozesse
5. Maßnahmen zum  
Umgang in der Überwachung
6. Fazit

# Nationales Referenzlabor für Marine Biotoxine



Deutsches NRL seit 1993 im BfR angesiedelt

- EURL in Vigo, Spanien Galizien Region mit höchster Muschelproduktion in EU
- Eingebunden in EU-Netzwerk EURL/NRL
- NRL im BfR kooperiert mit 5 EU MS, für diese die NRL Funktionen übernommen

Jährliche Veranstaltung eines Workshops mit den für die Überwachung zuständigen Laboren der Bundesländer, Cuxhaven 28.02.2018



# Marine Biotoxine

## Bildung

Toxine werden von **Algen** als Sekundärstoffe gebildet

ca. 5000 Algenarten sind bekannt, von denen ca. 75 marine Biotoxine produzieren können

Akut toxische Wirkung



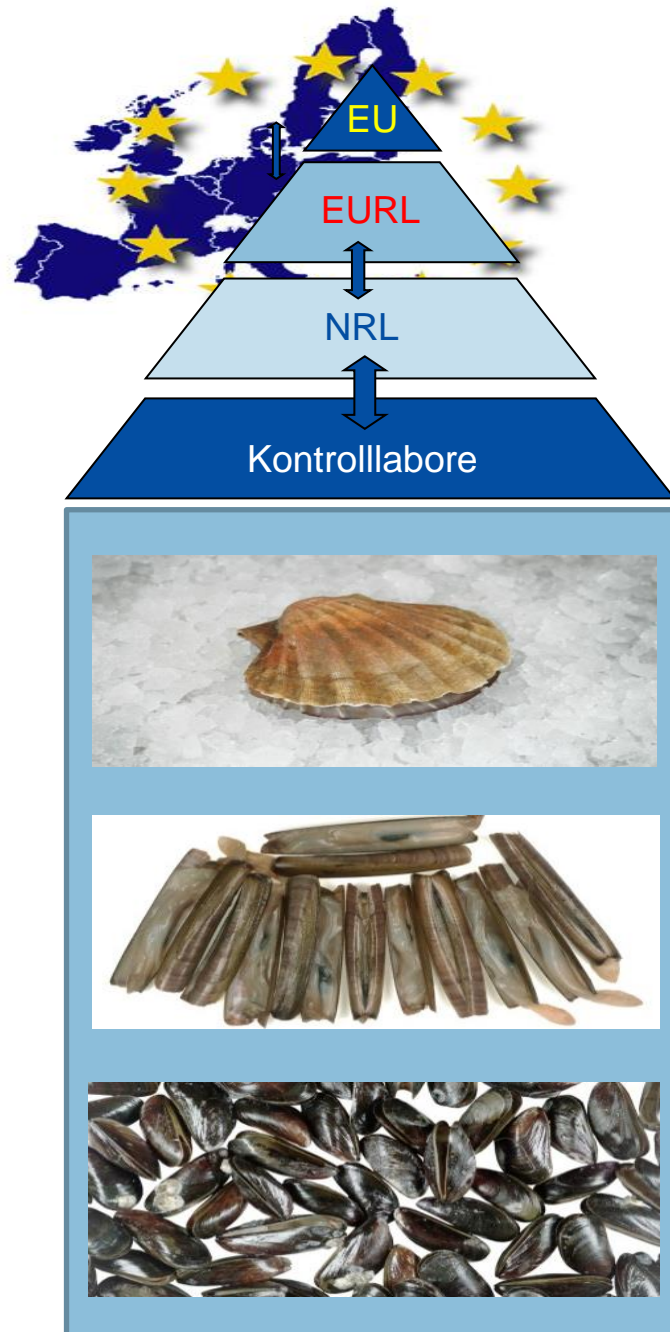
## Verzehr

von mit diesen Toxinen kontaminierten Muscheln kann beim Menschen gastrointestinale, paralytische, amnometische oder neurotoxische Krankheiten auslösen

## Kategorisierung der marinen Biotoxine

erfolgte früher auf Basis von klinischen Symptomen, heute zunehmend auf Basis der chemischen Strukturen

# Nationales Referenzlabor für Marine Biotoxine



Toxingruppe		Höchstwert in Muscheln µg/kg	Vorkommen in Fischen / Muscheln
Amnesic Shellfish Poisoning	ASP	DA 20 mg/kg	M/F
Paralytic Shellfish Poisoning	PSP	STX eq 800 µg/kg	M
<b>Lipophile Marine Biotoxine</b> Okadasäuregruppe Pectenotoxine Azaspirosäuren Yessotoxine	DSP/OA PTX AZA YTX	160 µg/kg (OA eq + PTX eq) 160 µg AZA1 eq 3,75 mg/kg	M M M M
<b>Tetrodotoxine</b>	TTX		F/M
Ciguatoxine	CTX		F
Maitotoxine	MTX		F
Neurotoxic Shellfish Poisoning	NSP		F
Palytoxin	PITX		F

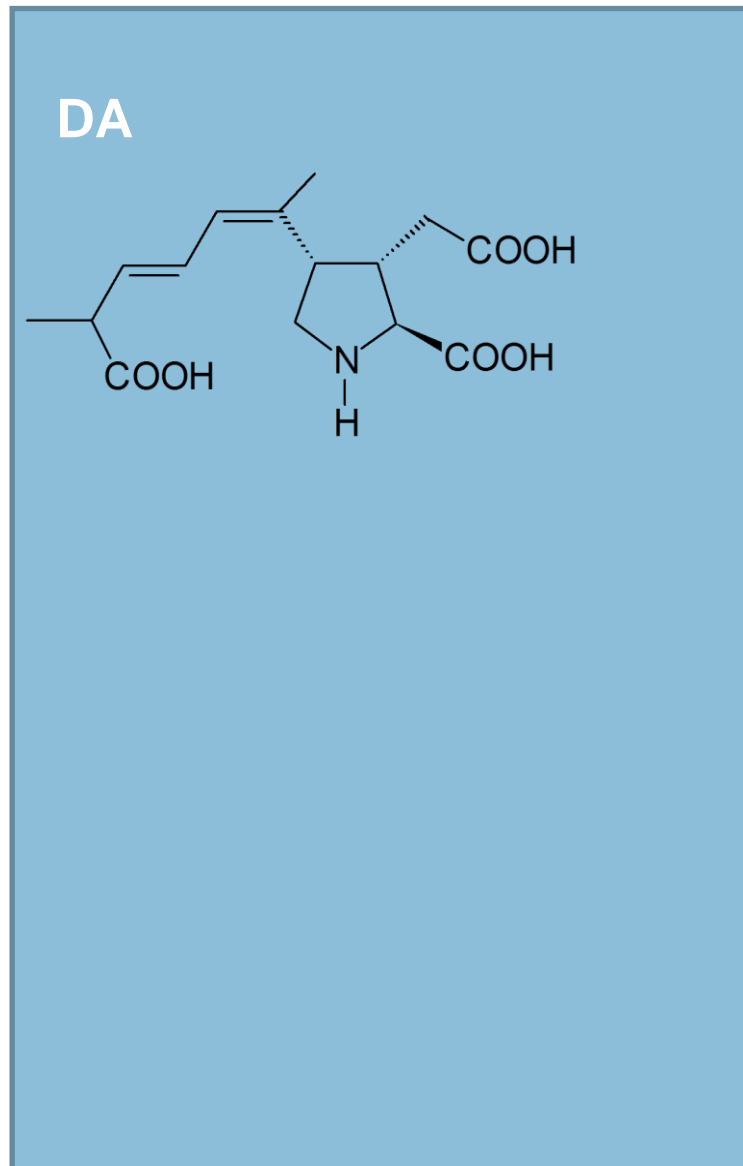
# Toxingruppen mit Höchstmengen in Muscheln

**Bezeichnung der Gruppen** erfolgte früher auf Basis der klinischen Symptome, heute zunehmend auf Basis der chemischen Strukturen

Toxin Gruppe	n Toxine	Polarität	...Shellfish Poisoning	Abkürzung nach Struktur	EU Höchstmengen
Domoinsäure	2 (10)	hydrophil	„Amnetic“ ASP	DA	20 mg/kg
Saxitoxin Gruppe	16 (>57)	hydrophil	„Paralytic“ PSP	STX	800 µg STX eq/kg
Okadasäure Gruppe	3 + Ester	lipophil	„Diarrhetic“ DSP	OA	160 µg (OA eq + PTX eq)
Pectenotoxin Gruppe	2 (>15)	lipophil		PTX	
Azaspirosäure Gruppe	3 (>50)	lipophil		AZA	160 µg AZA eq/kg
Yessotoxin Gruppe	4 (>90)	lipophil		YTX	3,75 mg YTX eq. /kg

# Hydrophile Toxingruppen

## Domoinsäure (DA) Gruppe und Saxitoxin (SXT) Gruppe



**SXT**

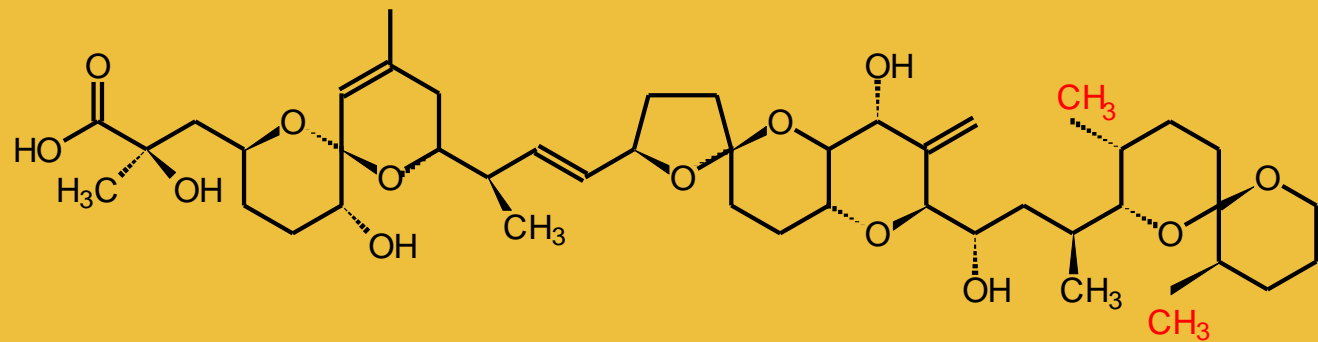
Carbamate toxins  
 $R4 = -OOC-NH_2$   
 N-Sulfocarbamoyl toxins  
 $R4 = -OOC-NH-SO_3^-$   
 Decarbamoyl toxins  
 $R4 = -OH$

Carbamate toxins		Sulfocarbamoyl toxins		Decarbamoyl toxins		R1	R2	R3
STX	1,0	GTX5	0,1	dcSTX	1,0	-H	-H	-H
GTX2	0,4	C1	0,0	dcGTX2	0,2	-H	-H	$-OSO_3^-$
GTX3	0,6	C2	0,1	dcGTX3	0,4	-H	$-OSO_3^-$	-H
NEO	1,0	GTX6	0,1	dcNEO	0,4	-OH	-H	-H
GTX1	1,0	C3	0,0	dcGTX1		-OH	-H	$-OSO_3^-$
GTX4	0,7	C4	0,1	dcGTX4		-OH	$-OSO_3^-$	-H

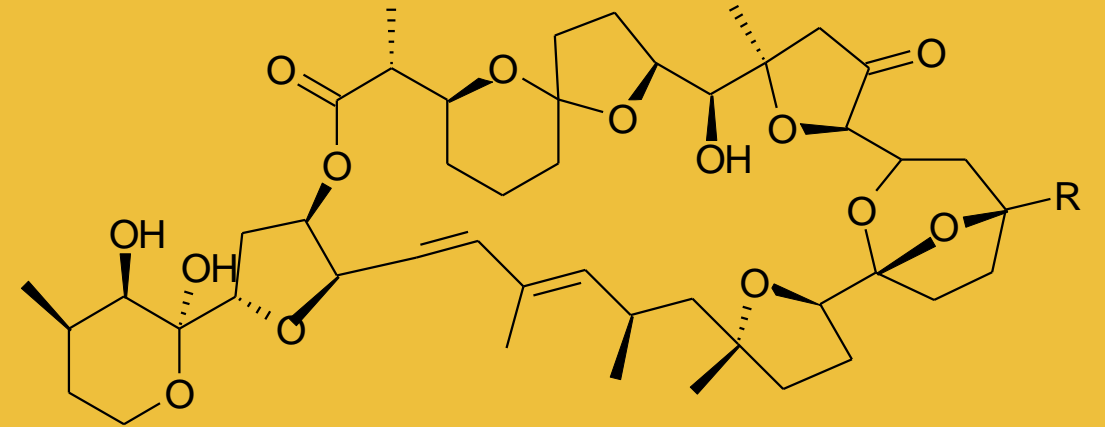
# Lipophile Toxingruppen

Okadasäure OA -, Pectenotoxin PTX -, Yessotoxin YTX -, Azaspirosäure AZA - Gruppe

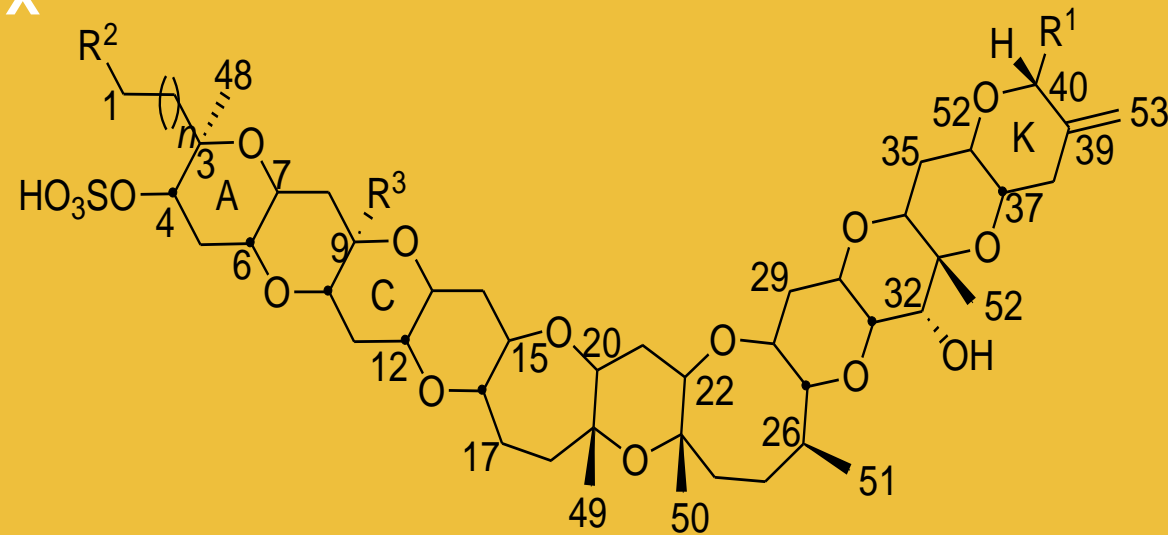
OA



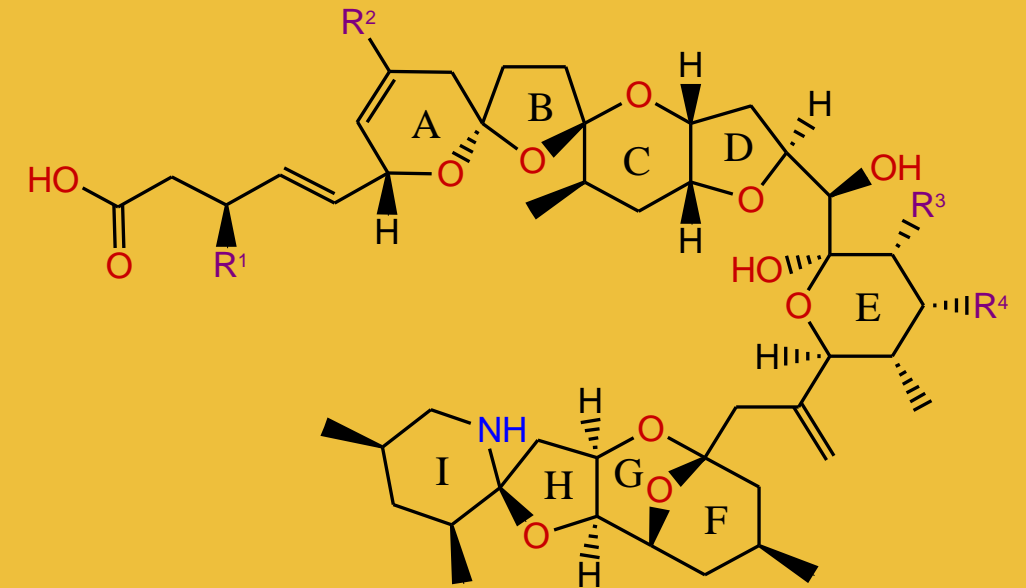
PTX



YTX



AZA





# EU - Vorgaben zu Höchstmengen und Analysemethoden

## **Verordnung (EG) Nr. 853/2004** Annex II Kapitel V HYGIENEVORSCHRIFTEN FÜR **LEBENDE** MUSCHELN

Lebensmittelunternehmer müssen..... sicherstellen, dass **lebende** Muscheln, die zum menschlichen Verzehr in Verkehr gebracht werden, den... folgenden Normen genügen:

2. Sie dürfen keine marinen Biotoxine ... In Gesamtmengen enthalten, die folgende Grenzwerte übersteigen:
  - a) Lähmungen hervorrufende Algentoxine (PSP):  
800 µg/kg
  - b) Amnesie hervorrufende Algentoxine (ASP):  
20 mg/kg
  - c) Okadasäure, Dinophysistoxine und Pectenotoxine  
160 µg OA eq/kg
  - d) Yessotoxine, geändert durch (EG) Nr. 786/2013  
3,75 mg/kg
  - e) Azaspirazide  
160 µg AZA eq/kg

## **Verordnung (EG) Nr. 2074/2005** ANNEX III ANERKANNTE TESTMETHODEN ZUM NACHWEIS MARINER BIOTOXINE

**PSP** nach der **biologischen Testmethode** oder einer anderen international anerkannten Methode nachgewiesen

Geändert durch (EG) Nr. 1664/2006, Lawrence-Methode, biologische Methode bleibt Referenzmethode

Geändert durch (EG) Nr. 2017/1980

**so genannte Lawrence-Verfahren**, veröffentlicht als AOAC Official Method 2005:06 als Referenzmethode ab 01.01.2019

**ASP** nach der **HPLC Methode** oder andere anerkannte Methoden

Geändert durch (EG) Nr. 1244/2007

**ELISA** zu den Methoden aufgenommen

### **Lipophile Marine Biotoxine**

Referenzmethode Maus-Bioassay bis 2011

Geändert durch (EG) Nr. 15/2011

**LC-MS/MS** gilt als Referenzmethode

# Bearbeitungsprozesse

## Einfluss der Hitzebehandlung auf Muschelproben und Toxine

### Hydrophile Toxine

- Sinkender Wassergehalt
- Sinkendes Muschelgewicht
- Sinkende Toxinmenge
- Toxin-Konzentration annähernd gleichbleibend oder sinkend
- **PSP** - teilweise Umwandlung in Analoga mit höherer Toxizität

nicht ausreichende Datenlage zur Gesamttoxizität

### Lipophile Toxine

- Sinkender Wassergehalt
- Sinkendes Muschelgewicht
- Gleichbleibende Toxinmenge
- Toxin-Konzentration nimmt zu
- **AZA** - teilweise Umwandlung in Analoga mit höherer Toxizität

# Umsetzung der EU - Vorgaben



## Muschelmonitoring - „pre-market“

Bestimmung der Toxingehalte unmittelbar nach der Muschelernte vor der Vermarktung

- **Lebende** Muscheln werden in Erzeugergebieten direkt analysiert



## Kontrolle im Einzelhandel - „post-market“

Bestimmung der Toxingehalte nach dem Transport, z.B. im Einzelhandel in Deutschland

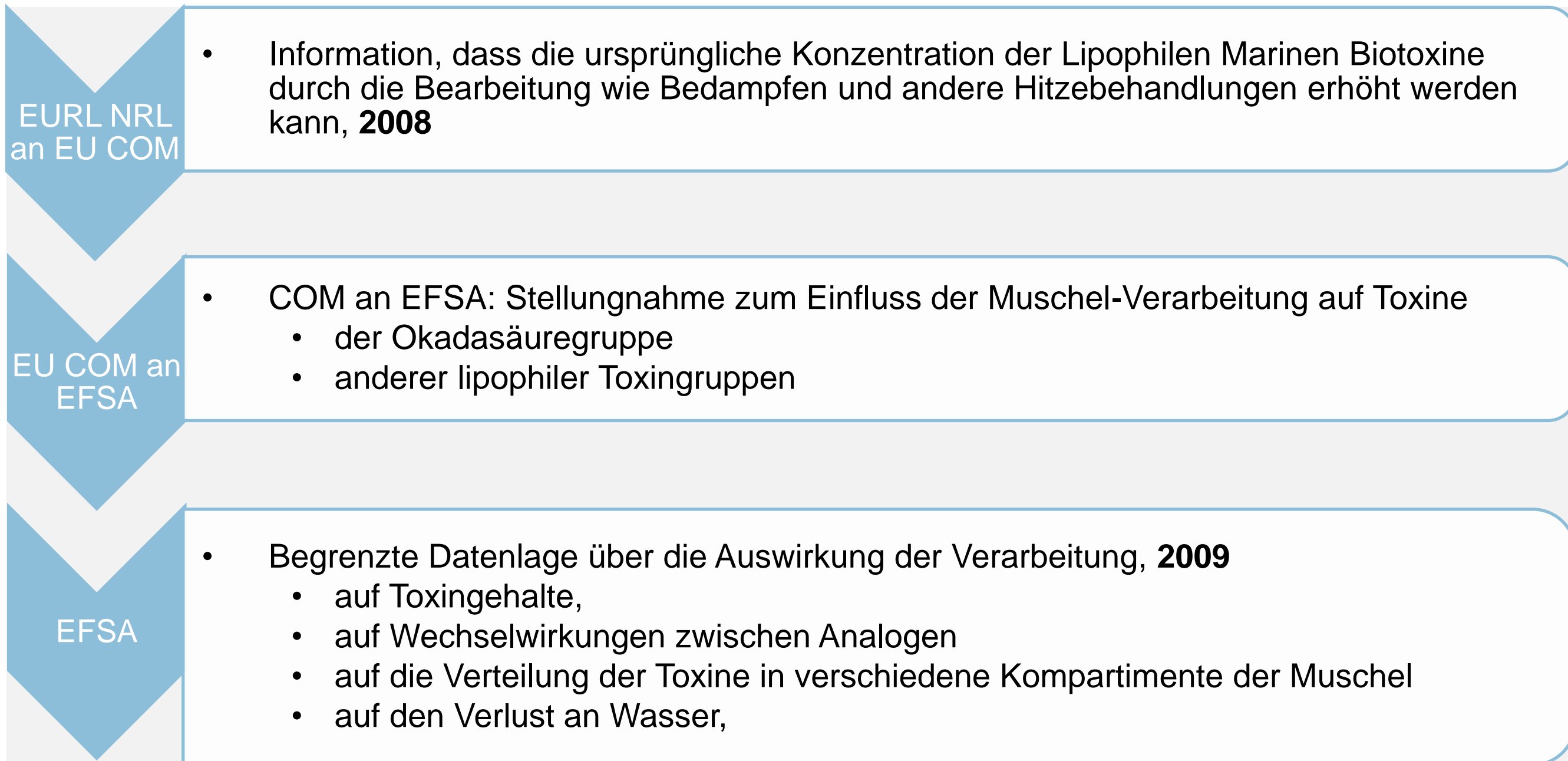
- Vor dem Transport werden die Muscheln durch Kochen, Bedampfen, Autoklavieren wärmebehandelt

Toxingruppe	Konzentrationserhöhung durch Bedampfen	Konzentrationserhöhung durch Autoklavieren
OA	30% - 70%	70% - 84%
AZA	100%	

**Gehalte lipophiler Toxine in einer Muschelprobe vor und nach der Verarbeitung sind nicht vergleichbar**

- Statement of the Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the European Commission on the Influence of processing on the levels of lipophilic marine biotoxins in bivalve molluscs. *The EFSA Journal* (2009) 1016, 1-10.)

# Ablauf und Maßnahmen



# Stellungnahme der EFSA

## Kontrolle im Einzelhandel - „post-market“

Bestimmung der Toxingehalte nach dem Transport, z.B. im Einzelhandel in Deutschland

- Vor dem Transport werden die Muscheln durch Kochen, Bedampfen, Autoklavieren wärmebehandelt

Statement of the Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the European Commission on the Influence of processing on the levels of lipophilic marine biotoxins in bivalve molluscs. *The EFSA Journal* (2009) 1016, 1-10.)

Toxingruppe	Konzentrations- erhöhung durch Bedampfen	Konzentrations- erhöhung durch Autoklavieren
OA	30% - 70%	70% - 84%
AZA	100%	

Gehalte lipophiler Toxine in einer Muschelprobe vor und nach der Verarbeitung sind nicht vergleichbar

## Erklärung für Handelskonflikte

### Muscheln aus Irland

Trotz Freigabe einer Muschelcharge in Irland aufgrund der

**AZA Gehalte < 160 µg / kg rohe Muscheln**

wurde diese Muschelcharge in Deutschland vom Markt genommen aufgrund der

**AZA Gehalte > 160 µg / kg gekochte Muscheln**

# Maßnahme des NRL

## Empfehlung des BfR an Überwachungslaboratorien (2013)

Empfehlung für die Bestimmung von marinen Biotoxinen in rohen Muschelproben  
2.10.2013 an Überwachungslabore und BMEL (vor Begehung durch FVO)

EU-Gesetzgebung bezieht sich auf rohe Muscheln

### **Ausgangslage in den Überwachungslaboren**

In den Laboren der amtlichen Überwachung wurden Muscheln, wenn diese roh vorlagen, vor der Analyse gekocht.

### **Ziel**

einheitliche gesetzeskonforme Vorgehensweise in Deutschland

### **NRL empfiehlt**

sofern rohe Muscheln verfügbar, werden 2 Teilproben hergestellt

- eine Teilprobe kochen und analysieren
  - eine Teilprobe roh einfrieren und lagern
- 
- ➔ wenn Gehalt an **lipophilen Toxinen in prozessierten Muscheln**  $\geq$  Grenzwert, muss rohe Probe analysiert werden
  - ➔ wenn Gehalt an **hydrophilen Toxinen in prozessierten Muscheln**  $> 0,5 \times$  Grenzwert, muss rohe Probe analysiert werden

## Maßnahmen des EURL

AG des  
EURL

- Änderung der Analysenmethode für die Bestimmung der lipophilen Toxine in verarbeiteten Muscheln:  
vor der Bestimmung soll zu verarbeiteten Muscheln eine definierte Menge Wasser zugegeben werden, **2015**

# Annex C der EU-SOP zu Bestimmung von lipophilen marinen Biotoxinen (2015)

## Vorgehen bei der Extraktion verarbeiteter **Miesmuscheln** der EU-SOP Version 5

Art der Verarbeitung	Vorgabe Anteil Muschel an der Probe [%]	Vorgabe Anteil der Flüssigkeit an der Probe [%]	Probenvorbereitung und Flüssigkeitszusatz homogenisieren
Miesmuscheln in Dosen			
• in Öl, Saucen, Brühe	50	50	zu Muscheln, Öl, Sauce bzw. Brühe berechnete Wassermenge zugeben, homogenisieren
• in Salzlake und andere nicht essbare Saucen	50	50	Muscheln waschen, abtrocknen, berechnete Wassermenge zugeben, homogenisieren
Gekochte, gedünstete Miesmuscheln	70	30	berechnete Wassermenge zugeben, homogenisieren
Vakuumverpackte Miesmuscheln			Muscheln aus der Schale lösen und gesamte Flüssigkeit in der Packung zugeben, homogenisieren



# Fazit

AG des  
EURL

- Änderung der Analysenmethode für die Bestimmung der lipophilen Toxine in verarbeiteten Muscheln:  
vor der Bestimmung soll zu verarbeiteten Muscheln eine definierte Menge Wasser zugegeben werden, **2015**

Höhere  
Exposition

- Die Zugabe von Wasser zu verarbeiteten Muscheln kann nunmehr zur Vermarktung von Muscheln mit höheren Gehalten an Toxinen führen
  - der Okadasäuregruppe
  - anderer lipophiler Toxine

Konflikt mit EFSA  
Empfehlungen

- Konflikt mit Stellungnahme der EFSA  
EFSA Scientific opinion, Marine biotoxins in shellfish – Summary on regulated marine biotoxins, The EFSA Journal (**2009**), 1306, 1-23

# Fazit

## Wissenschaftlich komplexes Thema

Mit begrenzter Datenlage

- zu Wasserverlusten bei Hitzebehandlung
- Löslichkeitsverhalten der Toxingruppen bei Hitzebehandlung

Geänderte SOP bringt Unsicherheiten mit sich

- nur für Miesmuscheln geregelt, für andere Muschelarten müssen die Wasserverluste ermittelt werden, nicht alle Miesmuschelarten verhalten sich gleich
- Marktkontrolle mit Unsicherheit behaftet, da Art und Intensität der Hitzebehandlung nicht immer bekannt

Analysemethoden erfassen z.T. nur wenige Vertreter der Toxingruppen

- Hitzebedingte Konversion einiger AZA-Analoga, die von Analysemethode erfasst werden, zu anderen AZA-Analoga, die z.T. nicht erfasst werden

# **Danke für die Aufmerksamkeit**

Angelika Preiß-Weigert

German Federal Institute for Risk Assessment

Max-Dohrn-Str. 8-10 • 10589 Berlin, GERMANY

Phone +49 30 - 184 12 - 0 • Fax +49 30 - 184 12 - 47 41

bfr@bfr.bund.de • [www.bfr.bund.de/en](http://www.bfr.bund.de/en)