

*Prikaz bolesnika/
Case reports*

ANALIZA OPIJATA U URINU NAKON
KONZUMACIJE PROIZVODA SA MAKOM
ANALYSIS OF OPIATES IN URINE AFTER
CONSUMPTION OF PRODUCTS WITH
POPPY SEED

Correspondence to:

Dr **Danijela Đukić-Ćosić**

Katedra za toksikologiju
„Akademik Danilo Soldatović”
Univerzitet u Beogradu – Farmaceutski
fakultet
Vojvode Stepe 450, 11221 Beograd
e-mail:
danijela.djukic.cosic@pharmacy.bg.ac.rs
telefon: 0638472709

Katarina Baralić¹, Milka Kostadinović¹,
Marko Antunović², Snežana Đorđević², Zorica Bulat¹,
Marijana Ćurčić¹, Danijela Đukić-Ćosić^{1*}

¹ Katedra za toksikologiju „Akademik Danilo Soldatović”, Univerzitet u Beogradu – Farmaceutski fakultet, Vojvode Stepe 450, 11221 Beograd, Srbija

² Centar za kontrolu trovanja, Vojnomedicinska akademija, Crnotravska 17, 11000 Beograd, Srbija

Ključne reči

opijati, proizvodi sa makom, urin, test trake, lažno pozitivan rezultat, LC-MS analiza

Key words

opiates, products which contain poppy seed, urine, screening test, false positive results, LC-MS analysis

Sažetak

U ovom radu je prikazan slučaj dve osobe ženskog pola starosti između 20 i 25 godina, koje su konzumirale široko dostupne pekarske proizvode sa makom, sa ciljem da se izvrši analiza opijata u urinu. Jedna osoba je konzumirala štrudlu a druga pletenicu, s tim da je štrudla vizuelno sadržala veću količinu maka. Uzorci urina od obe osobe (po 8 uzoraka) su sakupljeni nakon 5, 12, 24, 30, 36, 48, 60 i 72 sata od konzumacije. Urađena je imunohromatografska i LC/MS analiza na prisustvo opijata.

Rezultati imunohromatografske analize su pokazali da je test na opijate (*cuttof* 300 ng/mL) bio pozitivan u veoma dugom vremenskom periodu, 48 sati nakon konzumacije pletenice i čak 72 sata nakon konzumacije štrudle. LC-MS analizom su potvrđeni rezultati dobijeni preliminarnim testom i u svim pozitivnim uzorcima je dokazano prisustvo glavnih opijatnih alkaloida, morfina i kodeina. Koncentracija morfina je bila veća od koncentracije kodeina u svim uzorcima. Uočena je veća koncentracija morfina (0,25 mg/L) u urinu osobe koja je konzumirala štrudlu u odnosu na koncentraciju morfina (0,06 mg/L) nakon konzumacije pletenice.

Rezultati ovog rada potvrđuju da se opijati nalaze u urinu nakon konzumacije proizvoda sa makom i da ih je moguće detektovati čak tokom istog vremenskog perioda kao i kod korisnika psihoaktivnih supstanci, tri dana, i više. Takođe, prema dobijenim rezultatima vreme zadržavanja opijata u urinu je duže nakon konzumacije proizvoda sa većom količinom maka. Navedene rezultate treba imati u vidu prilikom rutinskih testiranja zaposlenih na radnom mestu, pripadnika vojske, učenika u školama i sportista.

UVOD

Zbog visokog potencijala zloupotrebe opijati spadaju u najčešće analizirane psihoaktivne supstance. Rano otkrivanje njihove zloupotrebe je jedan od preduslova za uspešnu prevenciju bolesti zavisnosti i najčešće se izvodi pomoću skrining testova kao što je imunohromatografska analiza urina^(1,2). Široka upotreba skrining testova za detekciju opijata u urinu se objašnjava jednostavnim i brzim izvođenjem analize, a time i brzo dostupnim preliminarnim rezultatima^(1,3). Osim kod osoba za koje postoji sumnja o zloupotrebi opijata, imunohromatografski skrining testovi se u poslednje

vreme primenjuju i prilikom rutinskih testiranja radnika, pripadnika vojske, učenika i sportista, životnih osiguranih^(1,2). Pri izvođenju skrining testa jedna od najvažnijih činjenica koju treba poznavati je vremenski period tokom koga se opijati mogu detektovati u urinu. Vreme detekcije zavisi od više faktora - dužine i učestalosti zloupotrebe, količine upotrebljene supstance, brzine njenog metabolizma i poluvremena eliminacije, kao i faktora koji se odnose na ispitanika (godine, telesna masa)⁽¹⁻⁴⁾. Najranije moguće otkrivanje opijata u urinu je od 2 do 4 sata, dok je vreme za koje ih je moguće detektovati uobičajeno period od 72 sata

tj. tri dana a kod češćeg uzimanja moguća je detekcija i koji dan duže (1,2). Dobijeni rezultati skrining testova su samo preliminarni rezultati i dodatno se moraju potvrditi tačnijom i osjetljivijim tehnikama poput tečne i gasne hromatografije sa masenom spektrometrijom. Štaviše, pozitivni rezultati skrining analize na opijate zahtevaju posebnu interpretaciju jer pozitivan rezultat može ukazivati na zloupotrebu morfina, kodeina ili heroína, a može biti i rezultat uzimanja izvesnih lekova, ili konzumiranja određene hrane (1, 2, 4, 5).

Seme maka dobija se iz biljke *Papaver somniferum* L. i koristi se širom sveta u raznim pekarskim proizvodima, kao i u pripremi brojnih slanih i slatkih proizvoda u domaćinstvima. Iako samo seme biljke *Papaver somniferum* L. ne bi trebalo da sadrži alkaloidne opijuma, literaturni podaci ukazuju da se oni mogu detektovati i to u veoma različitim koncentracijama u zavisnosti od porekla biljke i načina sakupljanja semena (4,6). Prisustvo alkaloida opijuma u semenu maka može biti rezultat oštećenja kapsule od strane insekata polinatora ili u toku žetve, kao i loše proizvođačke prakse (1). Osim toga, neadekvatna upotreba semena maka u pekarskoj industriji i domaćinstvima može uticati na prisustvo alkaloida opijuma, tj. morfina i kodeina, u pripremljenim proizvodima. Konzumacijom ovakvih proizvoda izvesne količine opijata se mogu uneti u organizam i ometati ispitivanje zloupotrebe psihoaktivnih supstanci (4). Literaturni podaci i naš prethodni prikaz slučaja pokazuju da konzumacija sirovog semena maka i pripremljenih proizvoda sa makom dovodi do lažno pozitivnog imunohromatografskog testa na opijate (5-8). Međutim, vremenski period tokom koga je moguće detektovati opijate u urinu osoba koje su konzumirale proizvode sa makom i dobiti lažno pozitivne rezultate još uvek nije dovoljno razjašnjen.

Cilj ovog prikaza slučaja bio je da se utvrdi prisustvo opijata u urinu imunohromatografskom i LC-MS analizom nakon konzumacije proizvoda sa makom dostupnih našoj populaciji, kao i da se utvrdi vremenski period u toku koga se detektuju morfin i kodein nakon konzumacije ovakvih proizvoda.

PRIKAZ SLUČAJA

Prikazuje se slučaj dve osobe ženskog pola, koje su konzumirale pekarske proizvode sa makom i u čijim uzorcima urina je ispitivano prisustvo opijata.

MATERIJAL I METODE

U ispitivanju su učestvovala dve zdrave osobe ženskog pola starosti između 20 i 25 godina bez poznate istorije zloupotrebe psihoaktivnih supstanci. Obe osobe su detaljno upoznate sa procedurom i planom ispitivanja i pisanim pristankom su potvrdile svoje dobrovoljno učešće. Proizvodi sa makom, štrudla i pletenica, su kupljeni na različitim mestima i ne može se smatrati da je za njihovu proizvodnju korišćena ista vrsta semena maka. Ispitanice su proizvode konzumirale u jutarnjim satima prvog dana, a potom sakupljale svaki uzorak urina tokom naredna tri dana. Sakupljeno je po 8 uzoraka svake osobe, i to po dogovoru, nakon 5, 12, 24, 30, 36, 48, 60 i 72 sata od konzumacije. Uzorci su sakupljeni u čiste polietilenske bočice za urin, čuvani na hladnom ($T=4-8\text{ }^{\circ}\text{C}$) i analizirani odmah nakon sakupljanja poslednjeg uzorka.

Imunohromatografska analiza

Korišćene su komercijalno dostupne test traka za opijate (Opiates Test Card, MP Biomedicals, LLC, Kalifornija, USA) sa graničnom vrednošću detekcije (*cutoff*) od 300 ng/mL. Test je izvođen i tumačen prema uputstvu za upotrebu datom od strane proizvođača u uzorcima sobne temperature.

LC-MS analiza

Za pripremu uzoraka korišćena je tečno-tečna ekstrakcija. Iz 1 mL uzorka urina ekstrakcija je vršena dodavanjem 6 mL smeše rastvarača hloroforma i izopropil alkohola u odnosu 9 : 1, uz 200 μL amonijum-hidroksida da bi se postigla optimalna sredina za ekstrakciju opijata (pH 9). Posle 20 min mućkanja na horizontalnoj mućkatici, uzorci su centrifugirani 10 min na 4 000 obrtaja/min, organski sloj je uparen i izvršena je rekonstitucija u 1 mL mobilne faze. Ovako pripremljen ekstrakt analiziran je metodom LC-MS na tečnom hromatografu Waters Alliance® (Waters Corporation, Milford, MA, USA), kolona Waters Spherisorb® 5 μm , ODS2, 4,6 \times 100 mm (Waters Corporation, Milford, MA, USA), petlja 50 μL , mobilna faza: amonijum-acetat:acetonitril (80:20; v/v) sa brzinom protoka 0,3 mL/min i maseni spektrometar Waters Micromass® ZQ™ (Waters Corporation, Milford, MA, USA) sa opsegom detekcije: 100-400 m/z. Sve korišćene hemikalije i reagensi su komercijalno dostupne: azot čistoće 99,9999%; metanol LC čistoće i amonijum-acetat (Merck, Darmstadt, Germany); hloroform, izopropil alkohol, amonijum-hidroksid i glacijalna sirćetna kiselina (Zorka Pharma p.a., Šabac, Srbija); acetonitril LC čistoće (J.T. Backer, Deventer, Netherlands); analitički standardi morfina i kodeina (Sigma- Aldrich Corporation, St. Louis, MO, USA). Osnovni rastvori morfina i kodeina pripremljeni su u metanolu, u koncentraciji 1 g/L, svaki pojedinačno. Radni rastvori standarda koncentracije 0,10, 0,20, 0,30, 0,50 i 1,00 mg/L dobijeni su razblaživanjem osnovnih standardnih rastvora u mobilnoj fazi.

REZULTATI SA DISKUSIJOM

Dve zdrave osobe ženskog pola starosti od 20 do 25 godina konzumirale su proizvode sa makom uobičajeno dostupne i široko upotrebljavane u ishrani naše populacije. Jedna osoba je konzumirala štrudlu, a druga pletenicu sa makom. U sakupljenim uzorcima urina izvršena je imunohromatografska analiza test trakama za opijate (*cutoff* 300 ng/mL) i rezultati su prikazani u Tabeli I.

Dobijeni rezultati pokazuju da je test traka za opijate pozitivna u svim ispitivanim uzorcima urina nakon konzumacije štrudle i 48 sati nakon konzumacije pletenice. Ovi rezultati su u saglasnosti sa prethodnim istraživanjima i potvrdili su prisustvo opijata u urinu osoba koje konzumiraju proizvode sa makom (2, 6, 7). Skrining testom za opijate se detektuju alkaloidi opijuma, morfin i kodein, kao i njihovi metaboliti glukuronidi. Literaturni podaci ukazuju da sadržaj morfina, najvažnijeg alkaloida prisutnog u semenu maka, varira u širokom opsegu (0,1-294 mg/g) u zavisnosti od porekla i načina sakupljanja semena (4, 6, 9). Osim toga, količina unetog alkaloida konzumiranjem proizvoda sa

makom zavisi i od procedure pripreme proizvoda, kako u industrijskoj tako i proizvodnji u domaćinstvima (6, 9). Značajno smanjenje sadržaja opijatnih alkaloida u finalnim proizvodima sa makom može se postići adekvatnim procesima tokom pripreme hrane, kao što su pranje, potapanje, kuvanje i pečenje semena (1, 6). Takođe, u cilju smanjenja pozitivnih skrining testova na opijate preporučuje se korišćenje test traka sa većom graničnom koncentracijom od 2000 ng/mL, umesto 300 ng/mL (1, 6). Međutim, u našoj zemlji i regionu dostupne su samo test trake sa nižom graničnom koncentracijom (300 ng/mL).

U prikazu ovog slučaja je pokazano da su opijati prisutni u urinu čak do 72 sata nakon konzumiranja proizvoda sa makom, što je znatno duži vremenski period u odnosu na rezultate drugih autora (1, 5, 8). U urinu osoba koje su konzumirale i sirovo seme maka i proizvod sa makom opijati nisu prisutni 20 sati nakon konzumacije (1, 5, 8). Međutim, Thevis i sar. (2003) su utvrdili prisustvo opijata u urinu u dužem vremenskom periodu, 48 sati posle konzumacije proizvoda sa makom, pokazujući da visok sadržaj morfina (151,6 mg/kg) u semenu maka utiče na produženo vreme detekcije u urinu (9). Osim sadržaja morfina u semenu na dobijene rezultate može da utiče i količina maka koja se unese u organizam. U ovom ispitivanju nije meren sadržaj morfina i

Tabela 1 Imunohromatografska analiza urina nakon konzumacije proizvoda sa makom

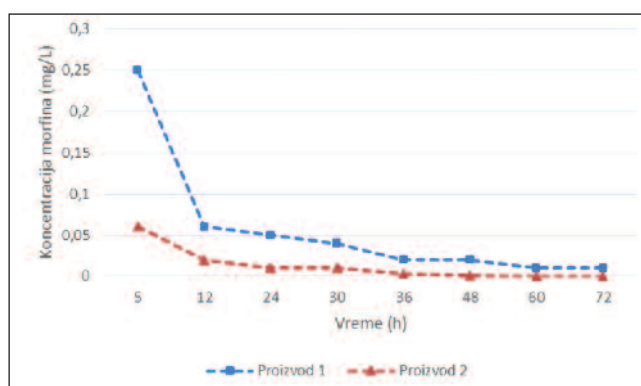
Broj uzorka urina	Vreme sakupljanja urina (sati)	Nalaz (Proizvod 1)	Nalaz (Proizvod 2)
1	5	+	+
2	12	+	+
3	24	+	+
4	30	+	+
5	36	+	+
6	48	+	+
7	60	+	-
8	72	+	-

+ - pozitivan rezultat imunohromatografske analize
 - - negativan rezultat imunohromatografske analize
 Proizvod 1 – štrudla, proizvod sa većom količinom maka; Proizvod 2 – pletenica, proizvod sa manjom količinom maka

kodeina u konzumiranim proizvodima, ali je vizuelno bilo uočljivo da je štrudla proizvod sa većom količinom maka u odnosu na pletenicu. Ovim se može objasniti dobijanje pozitivnih rezultata u dužem vremenskom periodu nakon konzumacije štrudle u odnosu na pletenicu sa makom (Tabela I).

Budući da se skrining imunohromatografskom analizom dobija samo preliminarni rezultat, svaki pozitivan test mora biti potvrđen konfirmativnom tehnikom iz istog uzorka urina, eventualno prvog narednog (3). Prihvaćene metode izbora za potvrdu pozitivnog nalaza opijata u urinu su tečna i gasna hromatografija sa masenom detekcijom, LC-MS i GC-MS. Svi ispitivani uzorci urina su analizirani i LC-MS tehnikom u ovom slučaju i dobijeni rezultati su prikazani grafikonom I i II. Oba opijata alkaloida, i morfin i kodein su detektovani u svim uzorcima urina osobe koja je konzumirala štrudlu. Takođe, prisustvo ovih alkaloida je potvr-

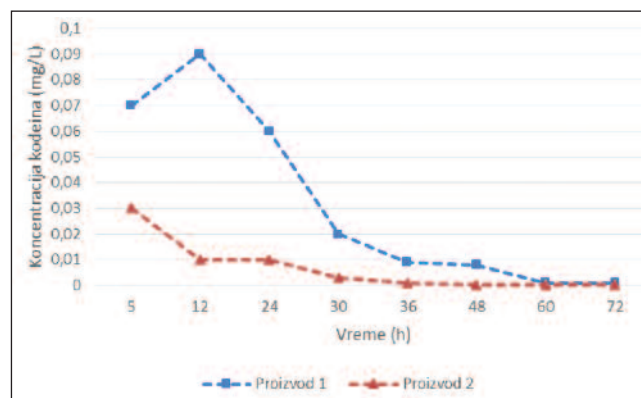
đeno u pozitivnim uzorcima urina osobe koja je konzumirala pletenicu (Tabela 1, Grafikoni I i II). Međutim, morfin nije detektovan u poslednja dva, a kodein u poslednja tri uzorka urina osobe koja je konzumirala pletenicu (Grafikoni I i II). Na ovaj način su pozitivni nalazi skrining analize potvrđeni i LC-MS analizom.



Grafikon 1 - Koncentracija morfina u urinu nakon konzumacije proizvoda sa makom

Proizvod 1- štrudla, proizvod sa vizuelno većom količinom maka
 Proizvod 2- pletenica, proizvod sa vizuelno manjom količinom maka

Iz grafikona I i II se može uočiti da je sadržaj morfina u ispitivanim uzorcima urina veći u odnosu na izmerene koncentracije kodeina. Dobijeni rezultati su u saglasnosti sa drugim istraživanjima i prema izveštaju Evropske agencije za bezbednost hrane EFSA (engl. *European Food Safety Agency*) ispitivanja u tri evropske zemlje su pokazala da se u odrasloj populaciji nakon unosa hrane koja sadrži seme maka javlja najviši nivo morfina, potvrđujući da je on osnovni opijatni alkaloid u maku, dok je na drugom mestu kodein (4). U ovom radu sadržaj morfina je znatno veći u urinu osobe koja je konzumirala štrudlu sa makom (0,25 mg/L) u odnosu na koncentraciju morfina (0,06 mg/L) u urinu osobe koja je konzumirala pletenicu, što se može objasniti i većom količinom unetog maka (Grafikon 1). Takođe, i sadržaj drugog praćenog alkaloida kodeina je veći u urinu osobe koja je konzumirala štrudlu, odnosno proizvod sa većim sadržajem maka (Grafikon 2). Konzumacijom čistog semena maka, kako je pokazano u



Grafikon 2 - Koncentracija kodeina u urinu nakon konzumacije proizvoda sa makom

Proizvod 1- štrudla, proizvod sa vizuelno većom količinom maka
 Proizvod 2- pletenica, proizvod sa vizuelno manjom količinom maka

ispitivanju Thevis i sar. (2003), takođe su u urinu izmerene veće koncentracije morfina u odnosu na kodein. Koncentracija morfina je iznosila više od 1 µg/mL, dok se izmerena koncentracija kodeina kretala od 0,06-0,82 µg/mL⁽⁹⁾.

Najviše izmerene koncentracije morfina u ovom radu određene su u prvom praćenom vremenu, 5 sati nakon konzumacije oba proizvoda (Grafikon 1). Takođe, najviše koncentracije kodeina su određene u prvim ispitivanim vremenima, 5 sati nakon konzumacije pletenice (0,03 mg/L) i 12 sati nakon konzumacije štrudle (0,09 mg/L). Maksimalne koncentracije opijatnih alkaloida u urinu postižu se 4-12 sati nakon konzumacije kako čistog semena maka, tako i proizvoda sa makom⁽¹⁾. U istraživanjima u kojima su ispitanici konzumirali 50 i 100 g semena maka potvrđeno je prisustvo morfina u najvećoj koncentraciji 4 sata po unosu semena maka: 73–168 ng/mL i 140–352 ng/mL⁽⁵⁾. Ovo potvrđuje veoma brz metabolizam opijata i njihovu veoma ranu detekciju u urinu. Poluživot morfina iznosi 1,8-2,9 h i prosečno se 60-90 % unete količine eliminiše urinom tokom 24 sata⁽¹⁰⁾. U skorijem istraživanju Sumano i sar. (2015) je pokazano da se u urinu ispitanika 2, 4, 6 i 20 sati po konzumaciji i sirovog semena maka i proizvoda sa makom mogu dobiti više koncentracije morfina i kodeina od dobijenih vrednosti u ovom istraživanju⁽⁶⁾. Koncentracije morfina u urinu su se kretala u opsegu 155-1408 ng/mL, nakon konzumacije peciva a čak u tri puta većem opsegu 294-4213 ng/mL nakon unosa sirovog semena. Kodein se pak detektovao 6 sati nakon ingestije i izmerene vrednosti su iznosile 140-194 ng/mL, po konzumaciji peciva i 121-664 ng/mL nakon unosa sirovog semena maka⁽⁶⁾.

Iako se uneti opijatni alkaloidi u najvećoj meri metabolišu i izluče u prvih 24 sata, rezultati ovih istraživanja pokazuju da se izvesne niske koncentracije alkaloida duže zadržavaju u urinu, merljive su LC/MS tehnikom i daju pozitivan rezultat skininga imunogromatografskom analizom u dužem vremenskom periodu, 48 do 72 sata, čak i duže. Na ovaj način je pokazano da nema razlike u vremenu detekcije opijata u slučaju njihove zloupotrebe i konzumacije izvesne hrane. Međutim, treba imati u vidu da, iako su nakon konzumacije proizvoda sa makom merljive koncentracije morfina i kodeina u urinu čak do 72 sata, izmerene vrednosti su daleko ispod koncentracija koje su prema literaturnim podacima prisutne kod osoba koje zloupotrebljavaju opijate. Koncentracije morfina i kodeina kod zavisnika

kreću se u opsegu 1,74–218 mg/L za morfin i 0,028–39,4 mg/L za kodein⁽¹¹⁾. Osim toga, potvrdnom konfirmativnom analizom se dokazuje prisustvo 6-monoacetyl-morfina u urinu korisnika heroina, što predstavlja ubedljiv dokaz da je reč o zloupotrebi heroina, a ne da je pozitivna skrining analiza rezultat konzumacije određene vrste hrane, tj. proizvoda sa semenom maka^(1, 6).

Iznete rezultate u ovom prikazu slučaja treba imati u vidu prilikom testiranja radnika, učenika i posebno sportista. Međunarodni olimpijski komitet je propisao graničnu vrednost za morfin 1 µg/mL u svrhu doping kontrole, a rezultati istraživanja Thevis i sar. (2003) pokazuju da nivo morfina može da bude veći od dozvoljene granice čak i 48 sati nakon konzumacije proizvoda sa makom⁽⁹⁾. Konzumacija proizvoda sa makom od strane sportista u danima kada nemaju takmičenje ne predstavlja problem, ali svakako treba imati u vidu vremenski period zadržavanja opijata jer rezultat može biti pozitivan ukoliko se anti-doping analiza izvrši u periodu od tri dana nakon konzumacije^(1, 9) (Thevis et al., 2003; Lachenmeier et al., 2010). Posebno treba imati u vidu da vreme zadržavanja opijata u urinu u značajnoj meri zavisi od količine unetog semena maka, kao i njegovog porekla, ukazujući na značaj uzimanja podataka o ishrani u prethodnim danima neposredno pre izvođenja rutinskih testiranja^(1, 4).

ZAKLJUČAK

Prezentovan prikaz slučaja potvrđuje da se opijati nalaze u urinu nakon konzumacije proizvoda sa makom i da ih je moguće detektovati imunohromatografskom i LC-MS analizom. Preliminarni rezultati imunohromatografskog testa su potvrđeni konfirmativnom metodom; u pozitivnim uzorcima je dokazano prisustvo opijatnih alkaloida, dok njihovo prisustvo nije utvrđeno u uzorcima sa negativnim preliminarnim nalazom. Detekcija opijata u urinu je duža nakon konzumacije proizvoda sa većom količinom maka i moguća je čak tokom istog vremenskog perioda kao i kod korisnika psihoaktivnih supstanci, tri dana, čak i više. Dobijene rezultate treba imati u vidu prilikom rutinskih testiranja zaposlenih na radnom mestu, pripadnika vojske, učenika u školama i sportista.

Abstract

This study presents the case of opiate analysis in urine of two female participants, aged between 20 and 25 who consumed commonly available bakery products with poppy seeds. One of the participants consumed strudel, the product with larger amount of poppy seeds, while the other consumed braid pastry. Urine samples of both participants (n=8) were collected 5, 12, 24, 30, 36, 48, 60 and 72 h after the consummation. Immunochromatographic screening test (cutoff 300 ng/mL) and LC-MS analysis were performed on the presence of opiates.

The screening test for opiates was positive for a very long period of time, 48 h after the consumption of braid pastry and even 72 h after the consumption of strudel. LC-MS analysis verified the results of screening test and the presence of the main opioide alkaloids, morphine and codeine, was confirmed in all positive samples. Determined morphine level was higher than the level of codeine in all samples. The concentration of morphine (0.25 mg/L) was higher in urine of the participant who consumed strudel, compared to the concentration of morphine (0.06 mg/L) after the consumption of braid pastry.

The results of this research show that opiates can be found in urine after the consumption of products which contain poppy seed. Morphine and codeine can be detected even during the same time period as in the samples of users of psychoactive substances (3 days and longer). According to the results, retention time of opiates in urine is longer after the consumption of products with higher amounts of poppy. This finding should be taken into account in routine testing of employees in the workplace, members of the military, students in schools, as well as athletes.

LITERATURA

1. Lachenmeier D.W, Sproll C, Musshoff F. Poppy Seed Foods and Opiate Drug Testing- Where Are We Today? *Ther Drug Monit* 2010; 32(1): 11-8.
2. Lum G, Mushlin B, Urine Drug Testing: Approaches to Screening and Confirmation Testing. *Lab Med* 2004; 6(35): 368-73.
3. Denić K, Rusić B, Antunović M, Đorđević S, Nešić V, Kilibarda V. Imunohromatografski skrining urina. Uzroci lažno pozitivnih i negativnih rezultata MD-Medical Data 2013; 5(4): 385-9.
4. EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM). Scientific Opinion on the risks for public health related to the presence of opium alkaloids in poppy seeds. *EFSA Journal* 2011; 9(11), 2405.
5. Jankovičová K, Ulbrich P, Fuknová M. Effect of poppy seed consumption on the positive results of opiates screening in biological samples. *Leg Med* 2011; 11: S416-S418.
6. Samano K.L, Clouette R.E, Rowland B.J, Barry R.H. Concentrations of Morphine and Codeine in Paired Oral Fluid and Urine Specimens Following Ingestion of a Poppy Seed Roll and Raw Poppy Seeds, *J Anal Toxicol* 2015; 39(8): 655-61.
7. Đukić-Čosić D, Bulat Z, Antunović M, Rusić B, Denić K, Đorđević S, Čurčić M, Antonijević B, Matović V. Consummation of Strudel with Poppy Seed and Opiates Urinalysis by Drug Screening Test and LC/MS Method. 11th Serbian Congress of Toxicology, Sremski Karlovci, Serbia, June 24-27, 2014.
8. Smith M.L, Nichols D.C, Underwood P. Morphine and codeine concentrations in human urine following controlled poppy seeds administration of known opiate content. *Forensic Sci Int* 2014; 241: 87-90.
9. Thevis M, Opfermann G, Schiunzer W. Urinary Concentrations of Morphine and Codeine After Consumption of Poppy Seeds. *J Anal Toxicol* 2003; 27: 53-5.
10. Jenkins AJ. Pharmacokinetics of specific drugs. In Karch SB (Ed), *Pharmacokinetics and pharmacodynamics of abused drugs* 2008; p. 50-3.
11. Fumio M, Kwok-Ming C, Yoshiaki H. Concentrations of morphine and codeine in urine of heroin abusers: *Legal Medicine* 1991; 1(3), 140-4.