


LA NOSTRA
ESPERIENZA,
LA VOSTRA
SICUREZZA.



***Monitoraggio di alcaloidi
pirrolizidinici in mieli di origine
nazionale ed estera***



ALCALOIDI PIRROLIZIDINICI (PAs)



- Composti organici naturalmente presenti in oltre 6000 specie di piante erbacee (famiglia **Boraginaceae**, **Asteraceae** e **Fabaceae**) che costituiscono il 3% delle piante fiorite mondiali
- Metaboliti secondari prodotti come **meccanismo di difesa**, si possono accumulare in varie porzioni della pianta (semi, infiorescenze, foglie, stelo e radici)
- Presenti in due forme: **ammine terziarie** e/o **N-ox**
- Il contenuto di PAs può variare a seconda della specie vegetale, del punto di accumulo, del tempo di raccolta e delle condizioni climatiche
- La contaminazione di altre specie può avvenire in fase di raccolta e di stoccaggio
- Molte di queste piante sono coinvolte nella produzione di **miele** sia in Europa (*Borago*, *Cynoglossum*, *Echium*, *Myosotis*, *Senecio*, *Tussilago*...) sia in altri paesi extra europei (*Crotalaria*, *Eupatorium*, *Heliotropium*...)

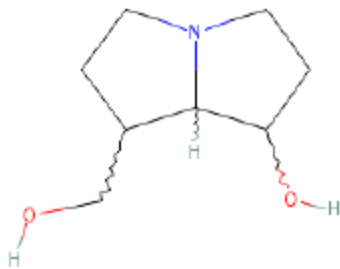
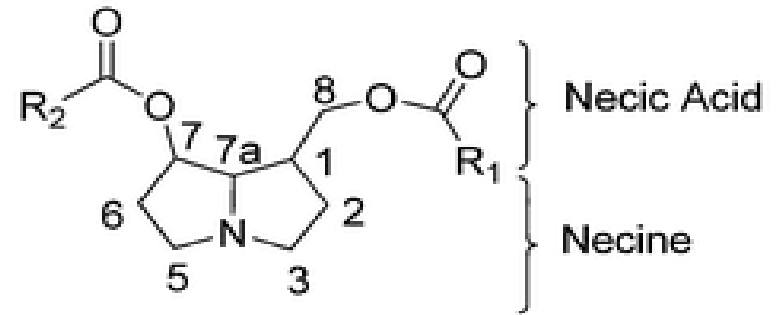




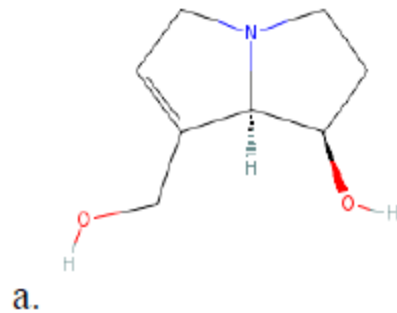
STRUTTURA CHIMICA



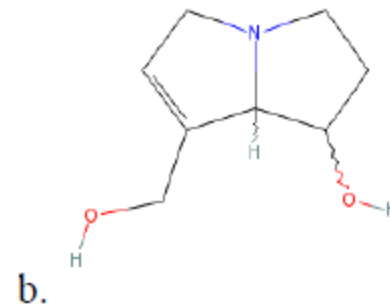
- Gruppo di circa 600 composti caratterizzati dalla presenza di un gruppo azotato eterociclico «**necina**»



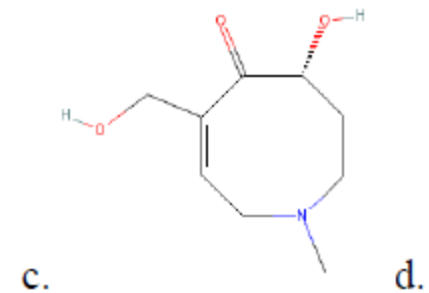
platynecine



retronecine



heliotridine



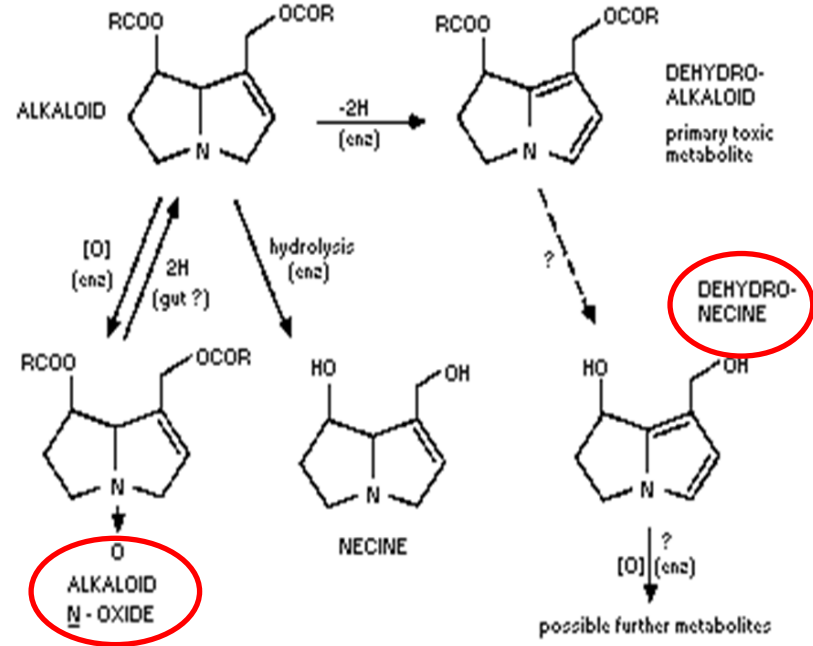
otonecine



ASSORBIMENTO, METABOLISMO ED ESCREZIONE



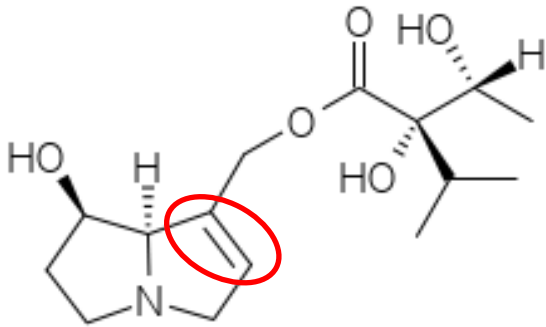
- Rapido **assorbimento** attraverso il sistema gastroenterico
- **Metabolizzazione** a livello epatico
- Trasformazione nei rispettivi «**N-ossidi**»
- Idrolisi ad opera di esterasi dei gruppi sostituenti esterificati
- Deidrogenazione del nucleo pirrolizidinicico a **derivati pirrolici** (metaboliti attivi)



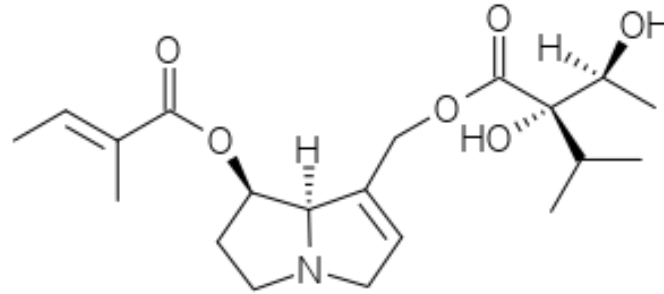
- **Eliminazione** { **via urinaria**
bile (reattivi pirrolici)



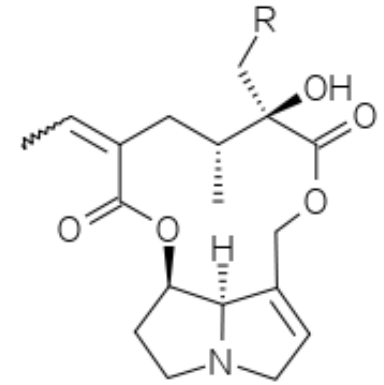
PAAs 1,2-insaturi



(monoesteri)

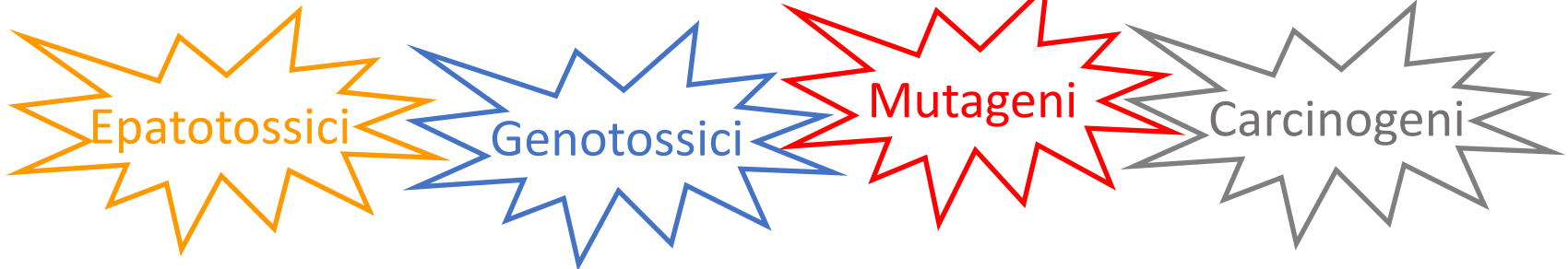


(diesteri)



(diesteri macrociclici)

Tossicità





2007

FEED

**OPINION OF THE SCIENTIFIC PANEL ON CONTAMINANTS IN THE FOOD CHAIN
ON A REQUEST FROM THE EUROPEAN COMMISSION RELATED TO
PYRROLIZIDINE ALKALOIDS
AS UNDESIRABLE SUBSTANCES IN ANIMAL FEED**

(Question N° EFSA-Q-2003-065)

Adopted on 25 January 2007





SCIENTIFIC OPINION

FOOD and FEED

Scientific Opinion on Pyrrolizidine alkaloids in food and feed¹

EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM)^{2,3}

European Food Safety Authority (EFSA), Parma, Italy

- **Senecionine-type PAs:** acetylerucifoline, erucifoline, integerrimine, jacobine, jacoline, jaconine, jacozone, retrorsine, senecionine, seneciphylline. These PAs occur particularly in the *Senecioneae* (Asteraceae family), but are also found in *Crotalaria spp.* (Fabaceae family).
- **Lycopsamine-type PAs:** acetylechimidine and isomers, echimidine and isomers, echivulgarine, lycopsamine and isomers, vulgarine. These PAs occur in the Boraginaceae family and in the *Eupatorieae* (Asteraceae family).
- **Heliotrine-type PAs:** europine, heliotrine, lasiocarpine. These PAs occur in *Heliotropium spp.* (Boraginaceae family).
- **Monocrotaline-type PAs:** fulvine, monocrotaline, retusamine, trichodesmine. These PAs occur in *Crotalaria spp.* (Fabaceae family).



2015



EFSA supporting publication 2015:EN-859

EXTERNAL SCIENTIFIC REPORT

Occurrence of Pyrrolizidine Alkaloids in food¹

Patrick P.J. Mulder^a, Patricia López Sánchez^a, Anja These^b, Angelika Preiss-Weigert^b,
Massimo Castellari^c

^a RIKILT – Wageningen UR, Wageningen, the Netherlands

^b Federal Institute for Risk Assessment (BfR), Berlin, Germany

^c Institute for Research and Technology in Food and Agriculture (IRTA), Monells, Spain



VS





STATEMENT



2017

ADOPTED: 21 June 2017

doi: 10.2903/j.efsa.2017.4908



Risks for human health related to the presence of pyrrolizidine alkaloids in honey, tea, herbal infusions and food supplements

- Based on the current data set, the CONTAM Panel proposed a set of 17 PAs to be monitored in food, namely: intermedine/lycopsamine, intermedine-*N*-oxide/lycopsamine-*N*-oxide, senecionine/senecivernine, senecionine-*N*-oxide/senecivernine-*N*-oxide, seneciphylline, seneciphylline-*N*-oxide, retrorsine, retrorsine-*N*-oxide, echimidine, echimidine-*N*-oxide, lasiocarpine, lasiocarpine-*N*-oxide, and senkirkine.

- NUOVE MOLECOLE E NUOVI ISOMERI
- LIMITI DI LEGGE AL VAGLIO DELLA COMMISSIONE EUROPEA

2019



Pianificazione di monitoraggi conoscitivi di sostanze indesiderabili negli alimenti

ALLEGATO B Sostanze incluse nelle macrocategorie di cui all'ALLEGATO A

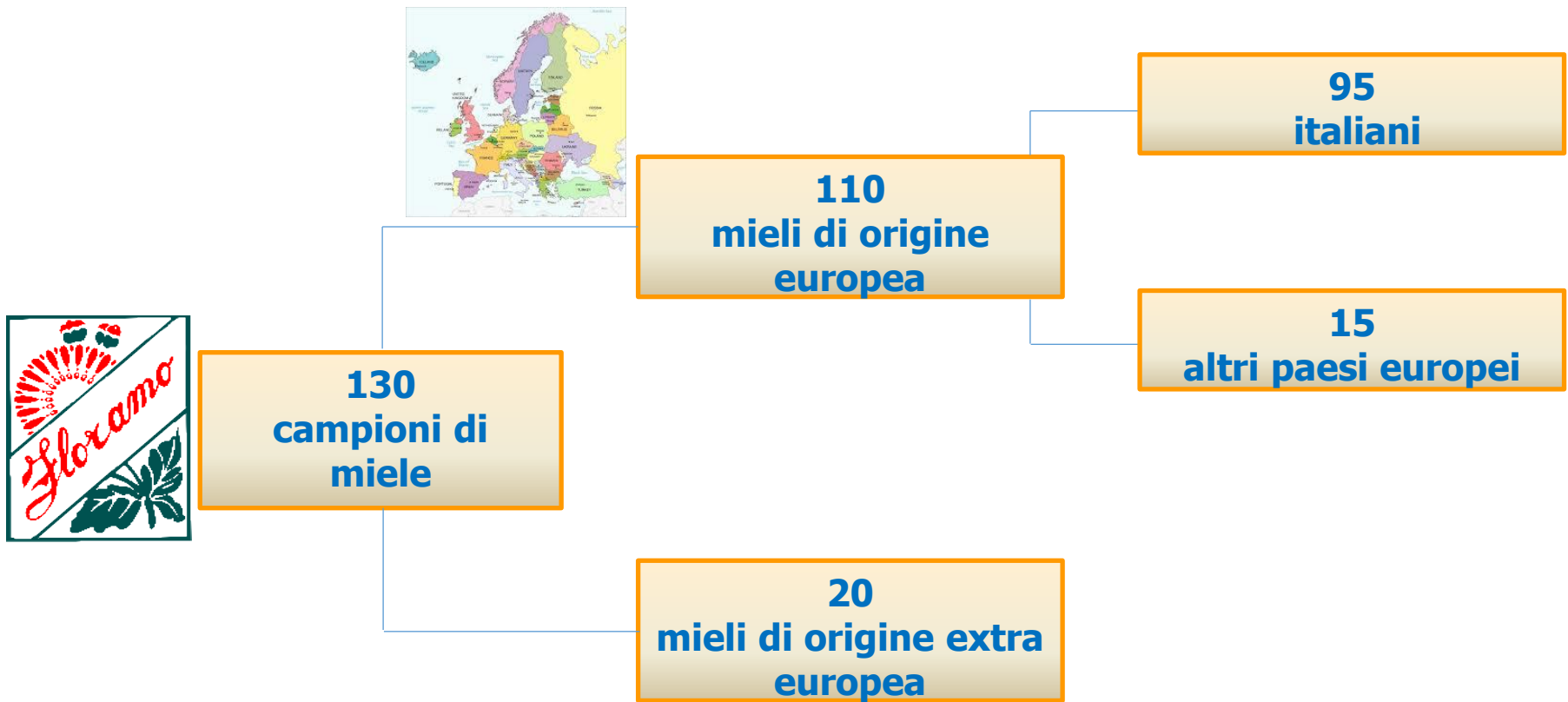
TOSSINE VEGETALI

1. THC (tetraidrocannabinolo)
2. **ALCALOIDI PIRROLIZIDINICI**
3. ALCALOIDI DELL'OPPIO
4. ERUCIC ACID
5. GLICOSIDI CIANOGENICI
6. ALCALOIDI DEL TROPANO





MONITORAGGIO CAMPIONI DI MIELE (2017-2018)





MP 02/445 rev. 0

MIELE, INTEGRATORI, TE' E INFUSI DI ERBE



1,5 g



**Senecionina D₃
(IS)**



QuEChERS



LC-MS/MS



LC-MS/MS

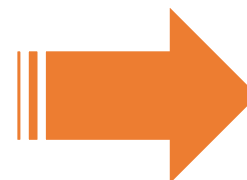
Strumento	Alliance 2695 (Waters) Quattro Ultima Pt (Waters)
Colonna cromatografica	Phenomenex Luna C8 3µm x 2 x 150 mm
Fasi mobili	A: H₂O 0,1% acido formico 5mM ammonio formiato B: MeOH 0,1% acido formico 5mM ammonio formiato
Volume iniettato	10 µL
LOQ	0,2 µg/kg



ALCALOIDI PIRROLIZIDINICI



PAs	PAs N-ox
Jacobine (Jb)	Jacobine N-ox (JbN)
Retrorsine (Re)	Retrorsine N-ox (ReN)
Senecionine (Sc)	Senecionine N-ox (ScN)
Seneciphylline (Sp)	Seneciphylline N-ox (SpN)
Senecivernine (Sv)	Senecivernine N-ox (SvN)
Erucifoline (Er)	Erucifoline N-ox (ErN)
Senkirkine (Sk)	
Intermedine (Im)	Intermedine N-ox (ImN)
Echimidine (Em)	Echimidine N-ox (EmN)
Lycopsamine (La)	Lycopsamine N-ox (LaN)
Europine (Eu)	Europine N-ox (EuN)
Heliotrine (Hn)	Heliotrine N-ox (HnN)
Lasiocarpine (Lc)	Lasiocarpine N-ox (LcN)
Monocrotaline (Mc)	Monocrotaline N-ox (McN)
Trichodesmine (Td)	



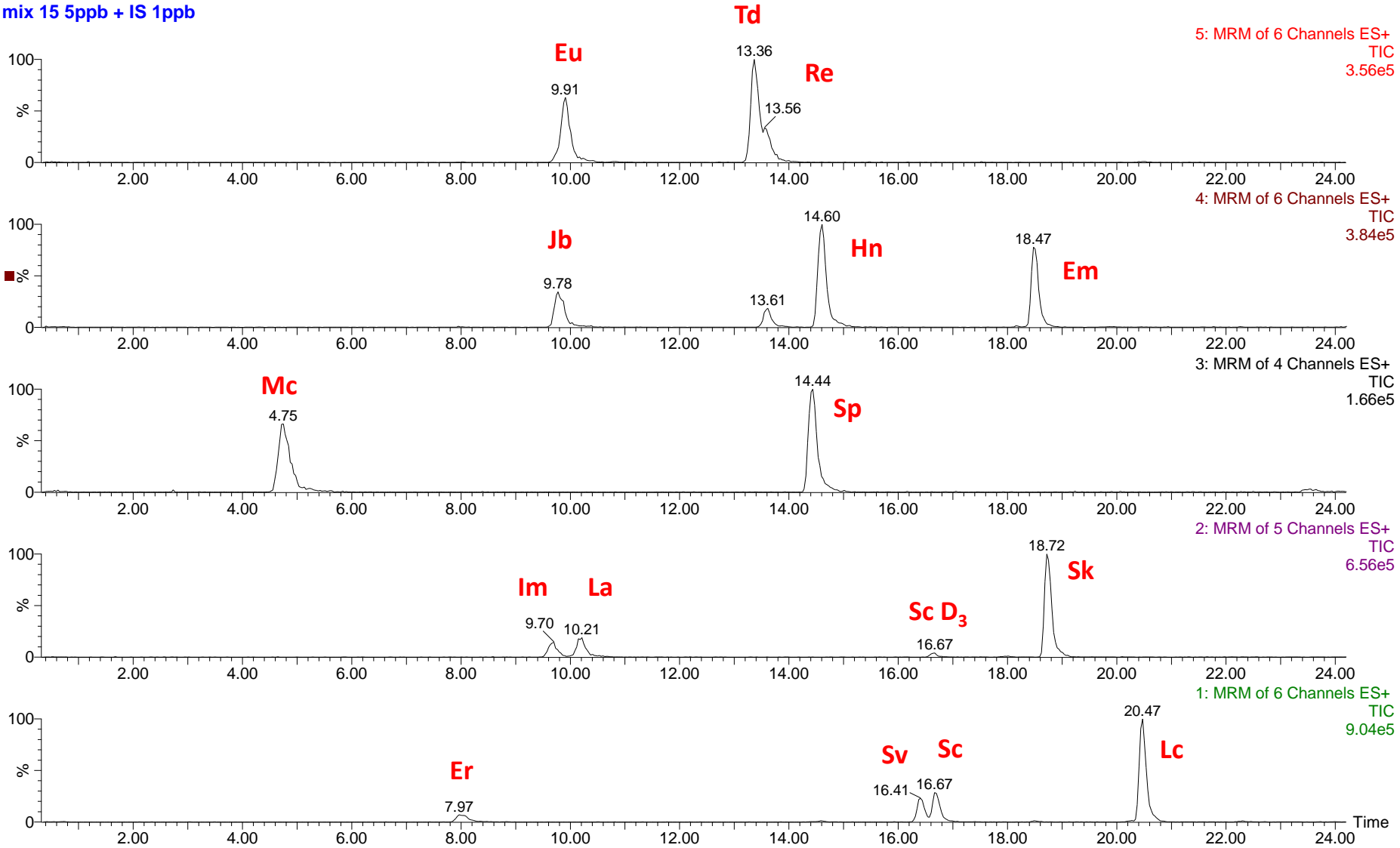
**28
analiti**



CROMATOGRAMMA MISCELA PAS



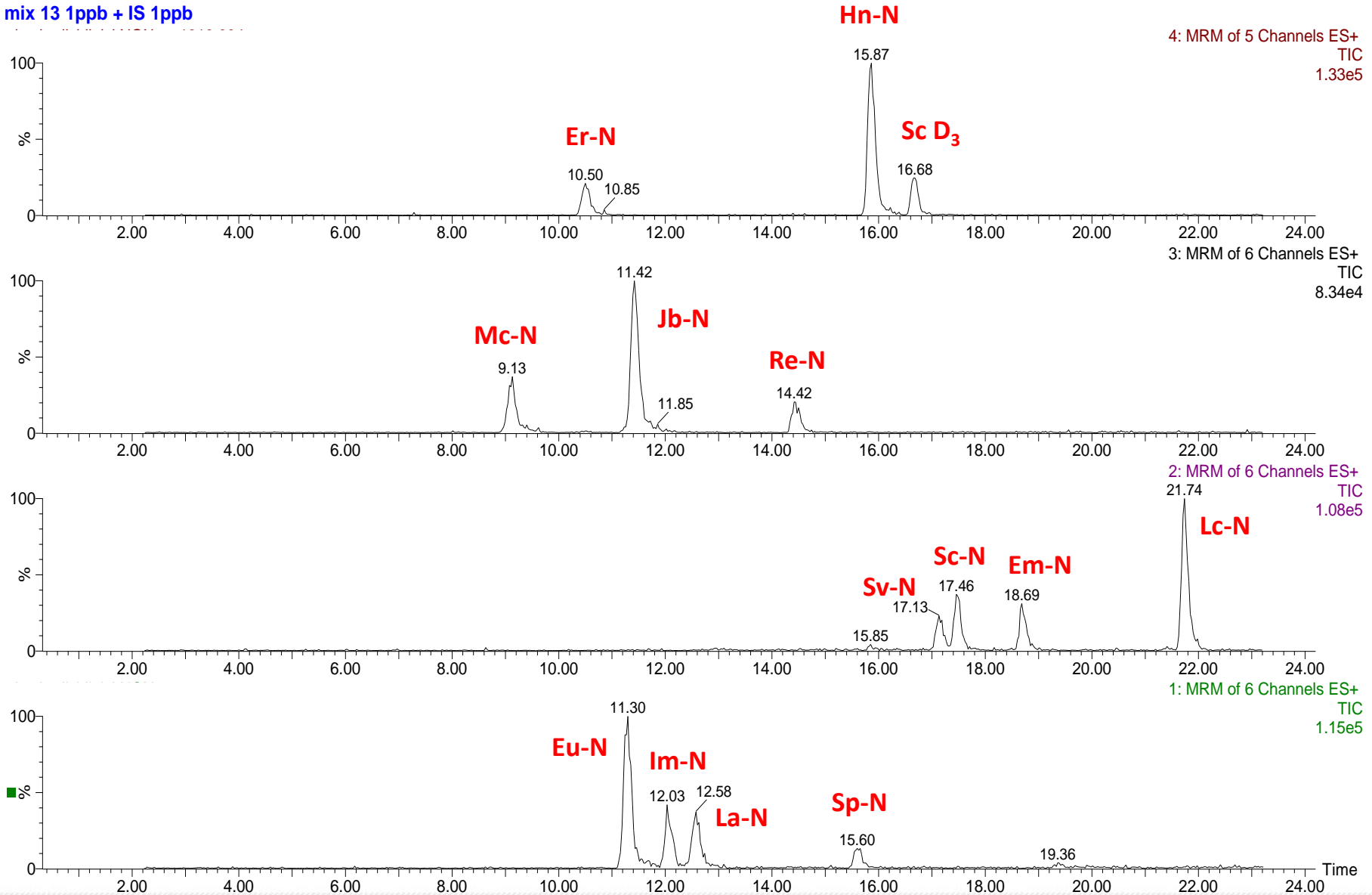
mix 15 5ppb + IS 1ppb





CROMATOGRAMMA MISCELA PAs N-ox

mix 13 1ppb + IS 1ppb





MIELI ITALIANI



**95
mieli italiani**

**76
monoflorali**

**19
millefiori**





MIELI MONOFLORALI ITALIANI



Tipologia	N°	Regione di provenienza
Rododendro	14	Lombardia Piemonte Trentino Alto Adige
Cardo	4	Sardegna
Acacia	13	Lombardia Piemonte Toscana Abruzzo Veneto Calabria
Castagno	7	Piemonte Liguria Toscana
Agrumi	4	Puglia
Tiglio	5	Veneto Emilia Romagna Piemonte Friuli Venezia Giulia
Ciliegio	2	Puglia

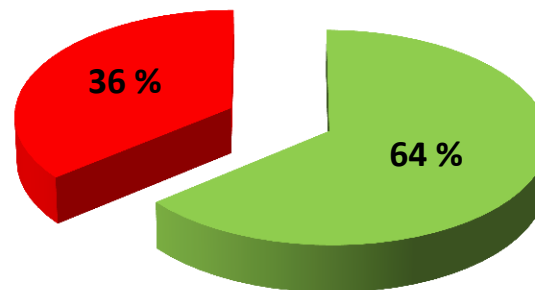
Tipologia	N°	Regione di provenienza
Timo	2	Sicilia
Tarassaco	3	Valle d'Aosta Lombardia Piemonte
Melata	8	Piemonte Toscana Emilia Romagna Campania
Asfodelo	1	Sardegna
Sulla	3	Sicilia Abruzzo
Eucalipto	3	Sardegna
Girasole	4	Marche
Colza	3	Marche Lombardia Veneto



MIELI MONOFLORALI ITALIANI

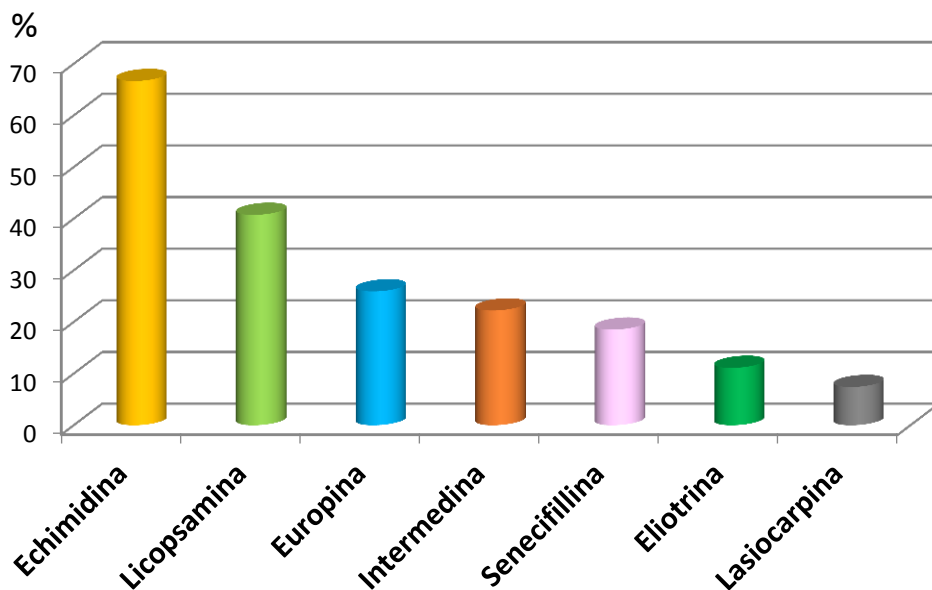


TOTALE MIELI	76	%
PAAs < LOQ	49	64
Presenza di PAAs	27	36



■ PAAs < LOQ

■ Presenza di PAAs



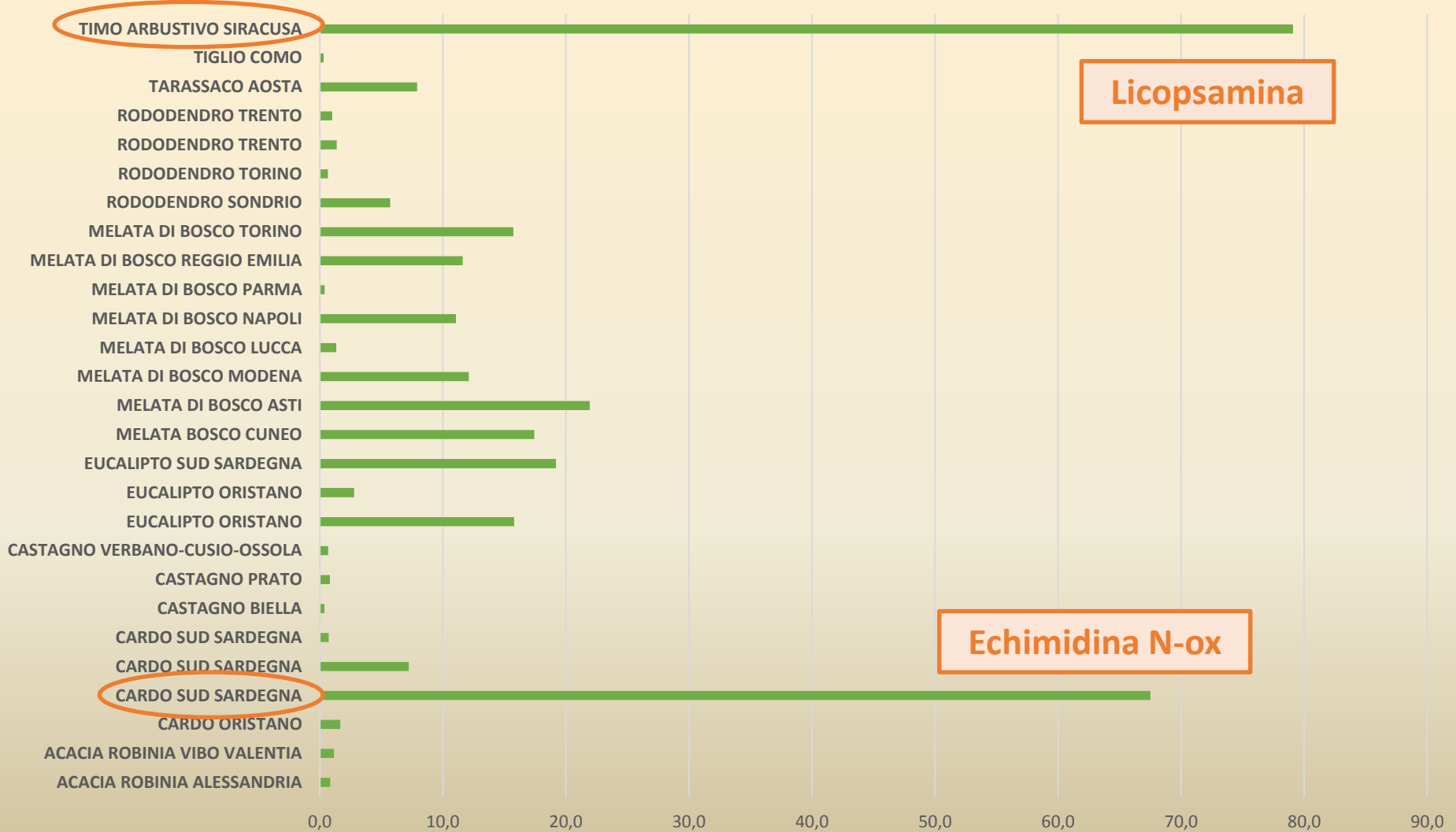
Alcaloide	%	N°
Echimidina	67	18
Licopsamina	41	11
Europina	26	7
Intermedina	22	6
Senecifillina	19	5
Eliotrina	11	3
Lasiocarpina	7	2



MIELI MONOFLORALI ITALIANI



SOMMA PAs ($\mu\text{g}/\text{kg}$)





MIELE DI CARDO



- La **Sardegna** è una delle regioni italiane maggiormente coinvolta nella produzione di miele
- Il **consumo** di questo prodotto nell'isola è molto elevato, perché il miele è una componente essenziale di numerose specialità dolciarie tipiche di questa regione
- Famiglia ***Asteraceae***





MIELE DI TIMO



- Noto già ai tempi dei Fenici, è tipico dei monti Iblei in **Sicilia**
- Usato in campo alimentare come insaporitore per cibi e come ingrediente di tisane depurative
- I fiori possono variare dal bianco al rosa-violetto, sono molto ricchi di nettare e quindi offrono un potenziale mellifero degno di nota (alto tenore di fruttosio, enzimi e acidità)
- Famiglia **Lamiaceae**
- Analisi melissopalnologica

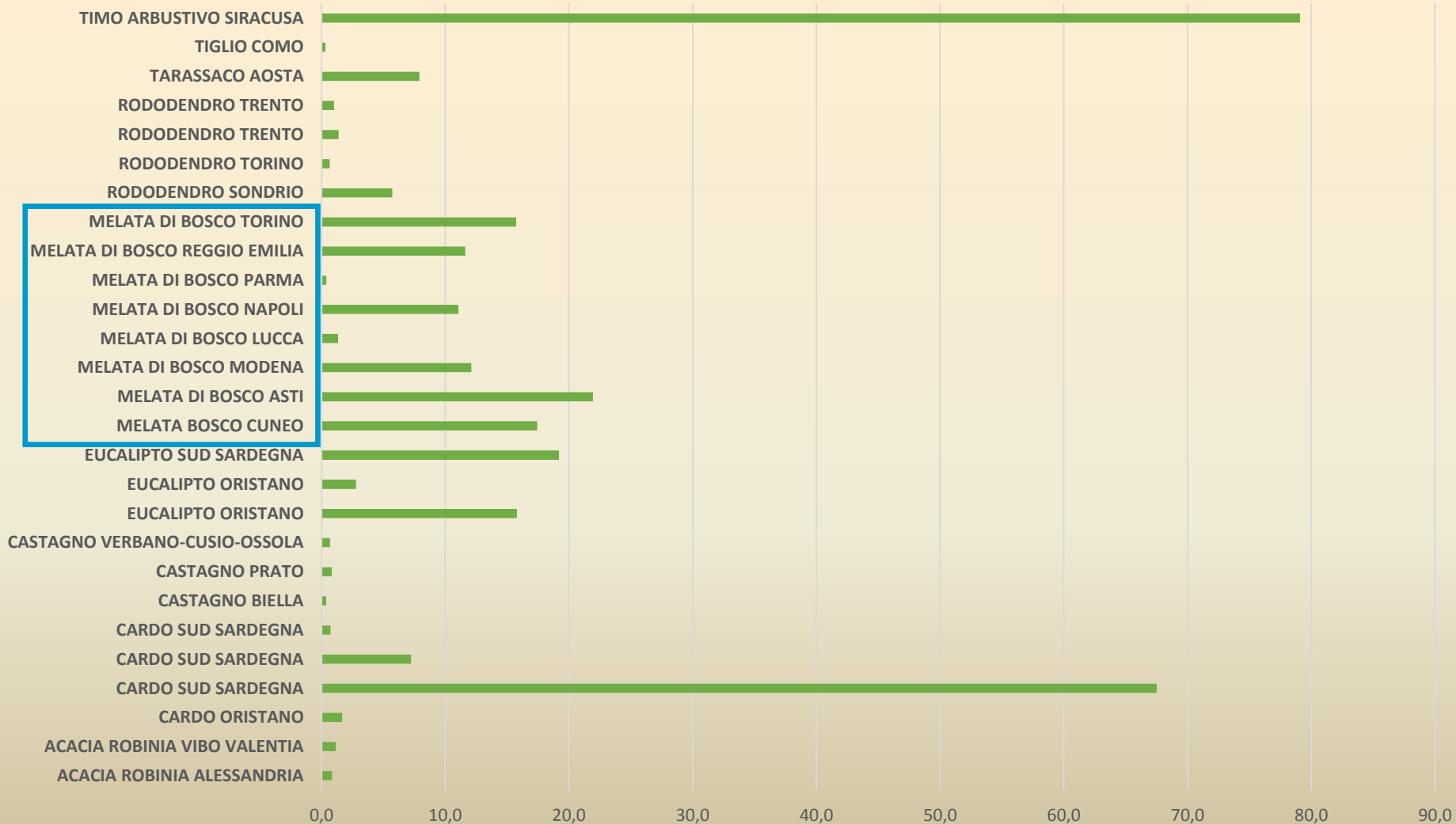




MELATA DI BOSCO



SOMMA PAs ($\mu\text{g}/\text{kg}$)

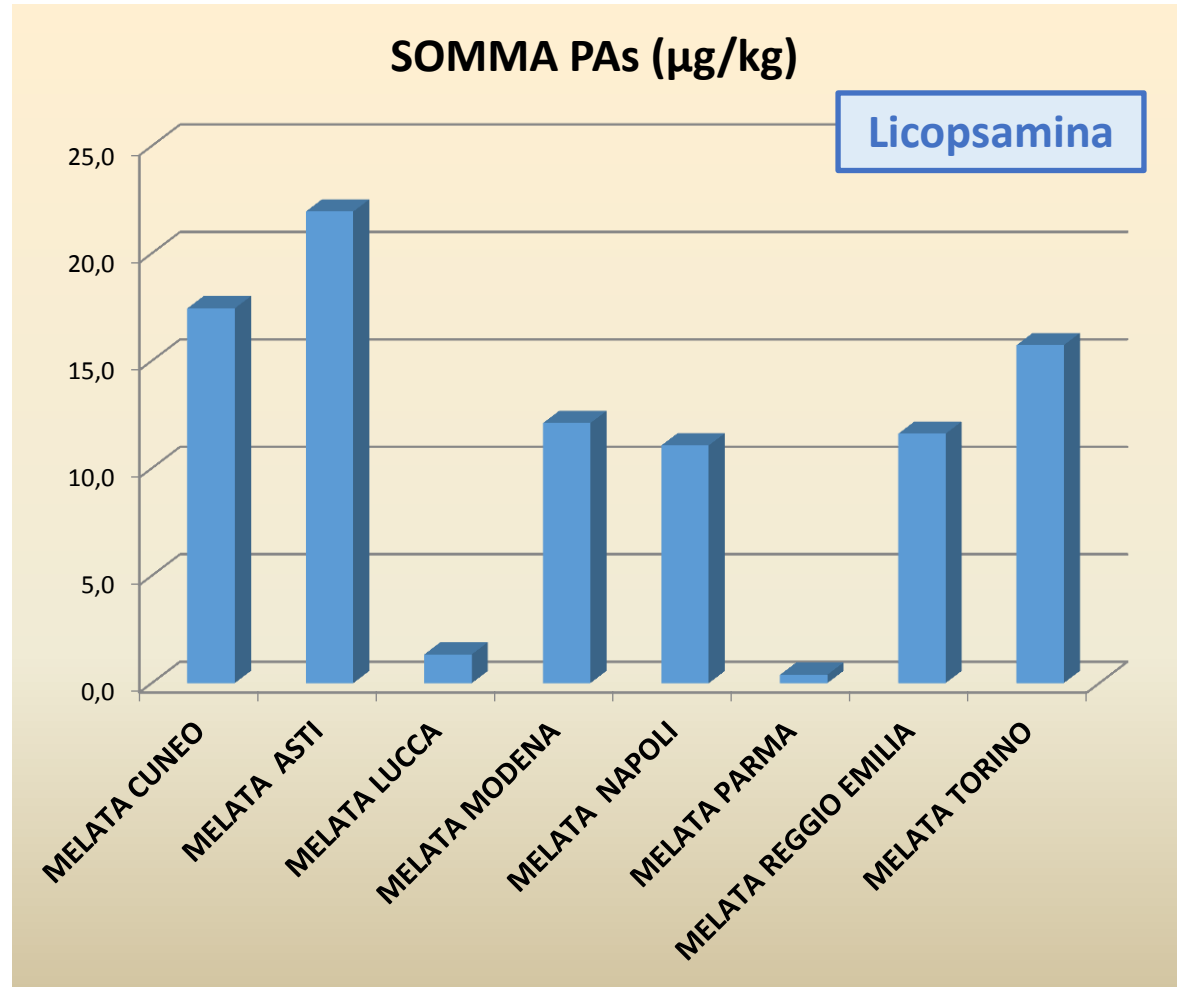




MELATA DI BOSCO



- **Sostanza zuccherina** che si trova su piante come abete, pino, quercia, tiglio, castagno, acacia...
- Alcuni **insetti** (afidi, cocciniglie...) sono in grado di trarre la linfa da queste piante ed eliminare circa il 90% degli zuccheri in essa contenuti, attraverso l'intestino, sotto forma di **gocce**

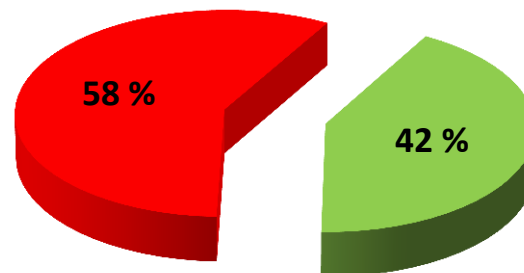




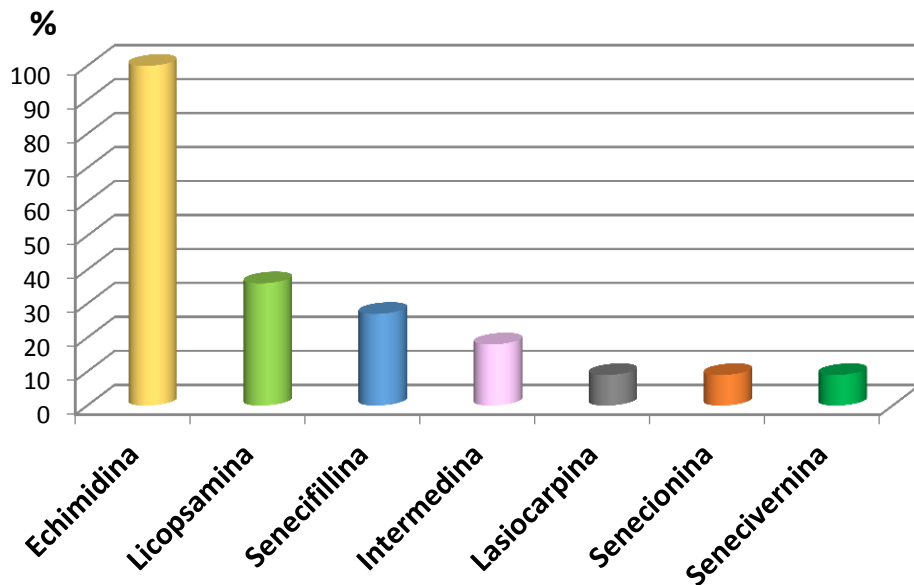
MILLEFIORI ITALIANI



TOTALE MIELI	19	%
PAs < LOQ	8	42
Presenza di PAs	11	58



■ PAs < LOQ
■ Presenza PAs



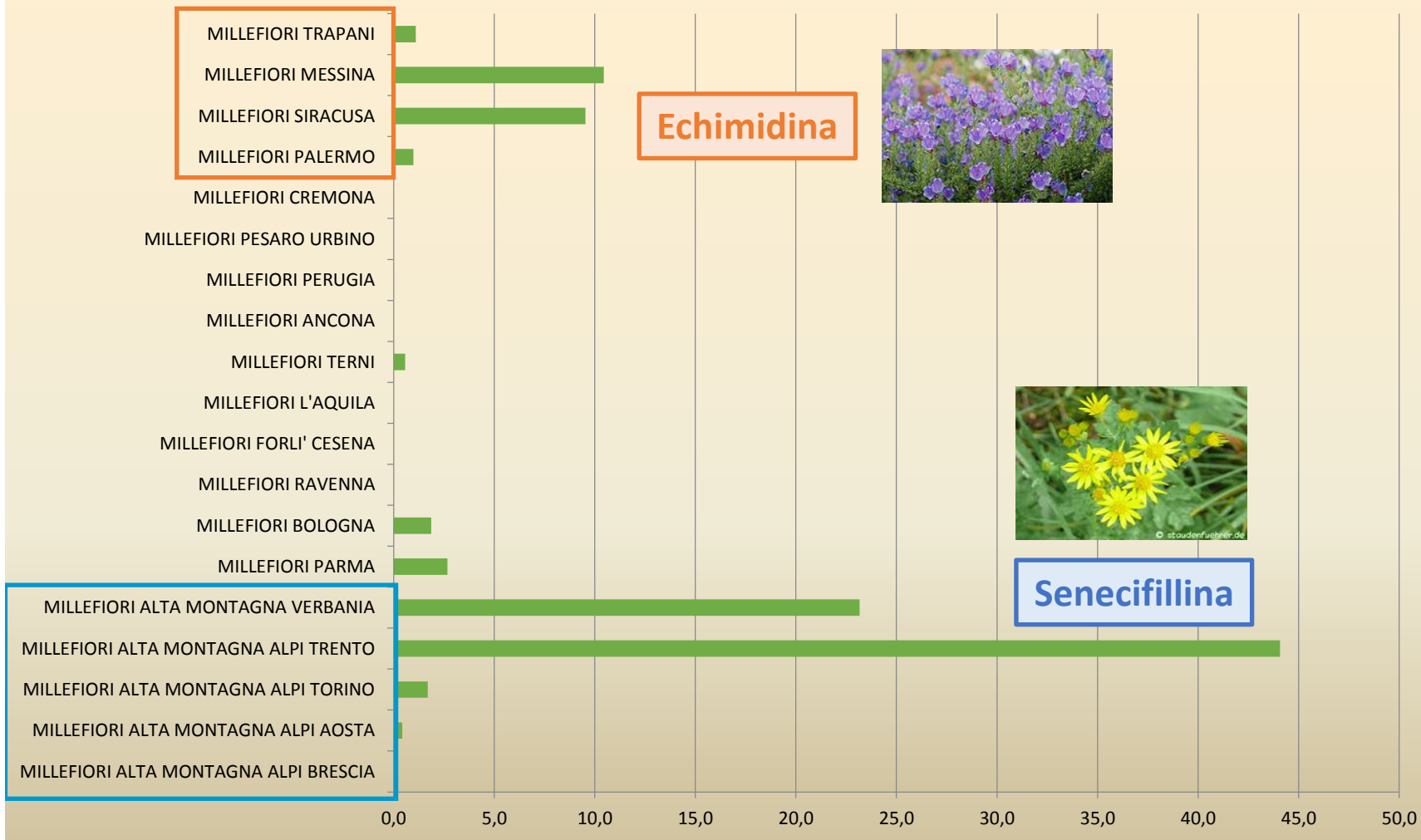
Alcaloide	%	N°
Echimidina	100	11
Licopsamina	36	4
Senecifillina	27	3
Intermedina	18	2
Lasiocarpina	9	1
Senecionina	9	1
Senecivernina	9	1



MILLEFIORI ITALIANI



SOMMA PAs ($\mu\text{g}/\text{kg}$)





MIELI PROVENIENTI DA ALTRI PAESI EUROPEI



**15
mieli**

**8
millefiori**

**7
monoflorali**

Tipologia

Acacia

Rosmarino

Carruba

Melata

Arancio

Lavanda



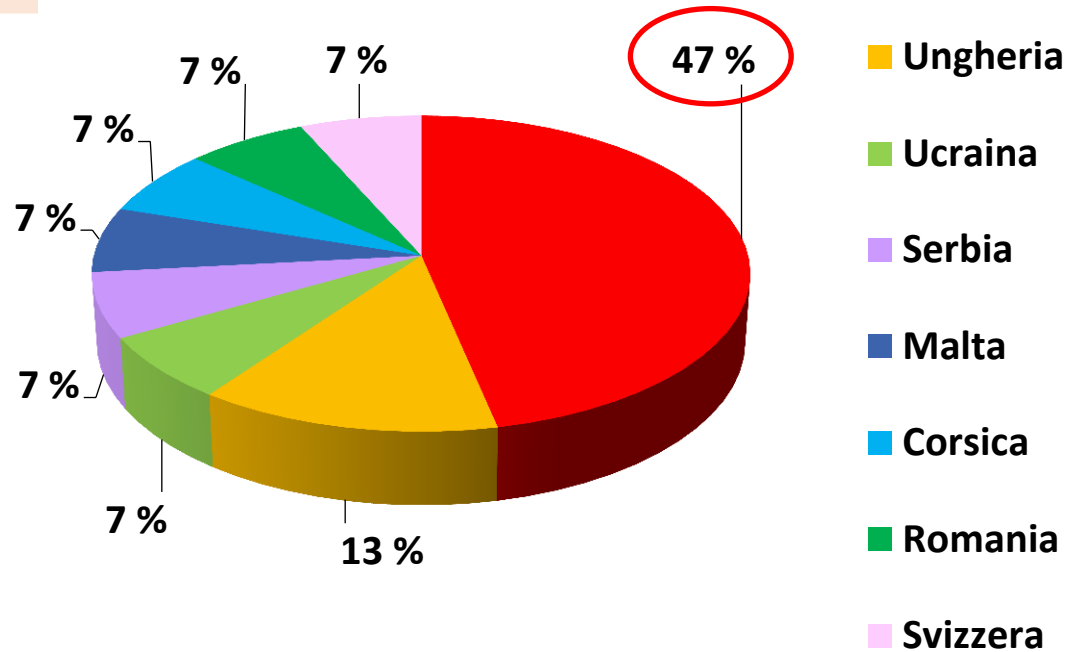
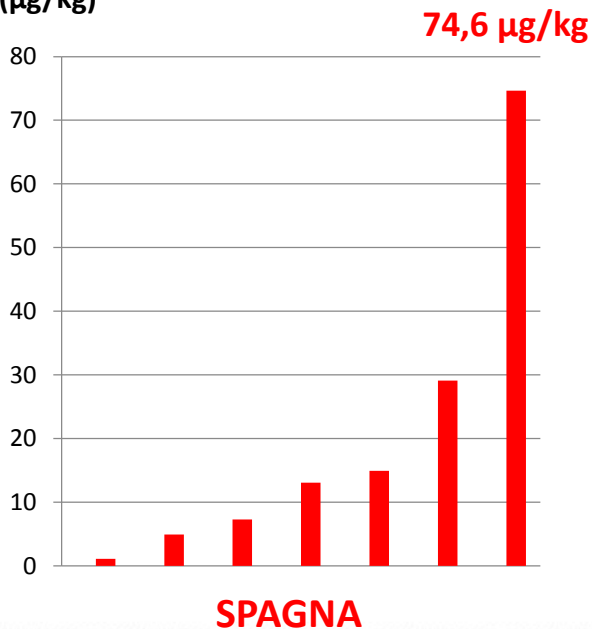


MIELI EUROPEI: PROVENIENZA



MIELI EUROPEI	15	%
PAs < LOQ	1	7
Presenza di PAs	14	93

SOMMA PAs
(µg/kg)

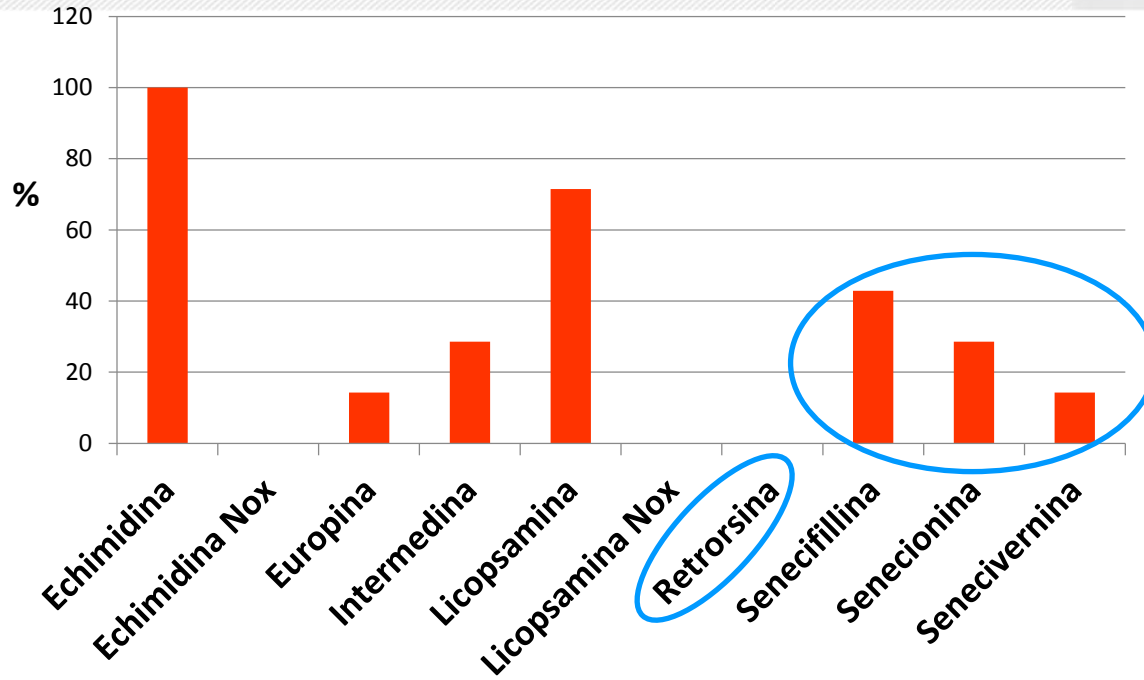




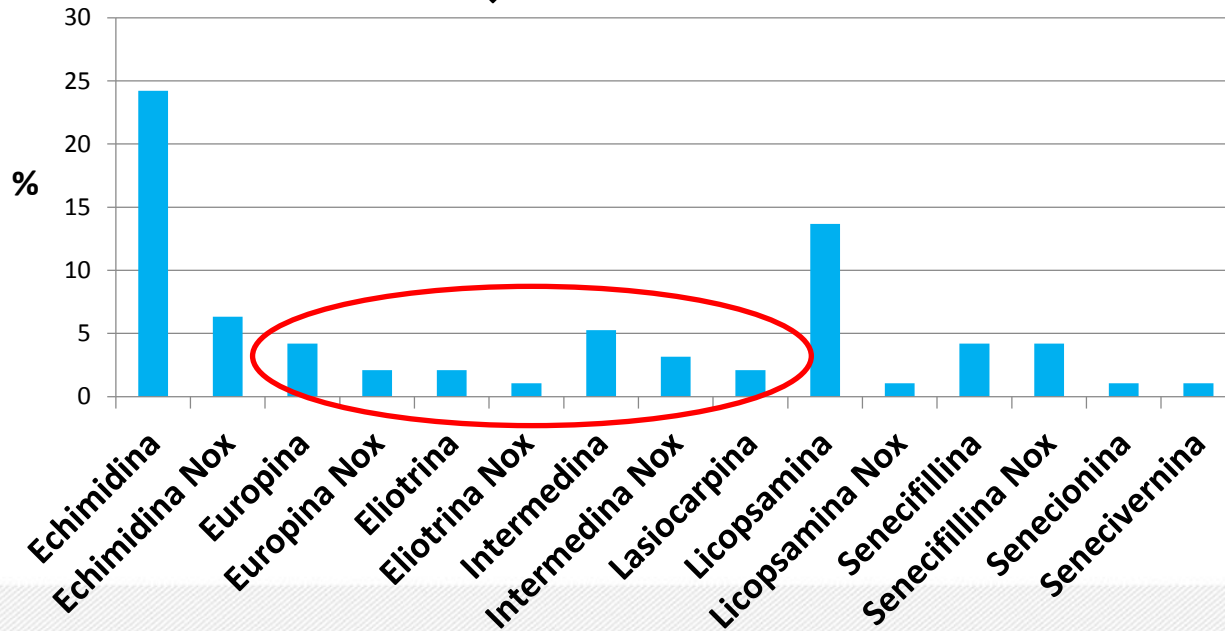
DISTRIBUZIONE ALCALOIDI



SPAGNA



ITALIA

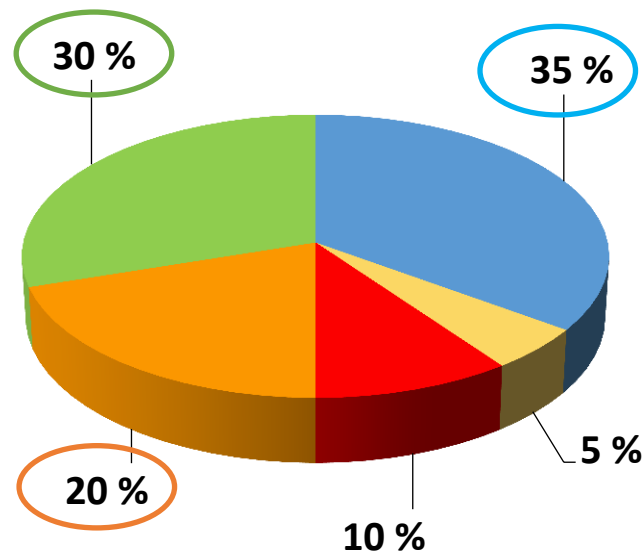
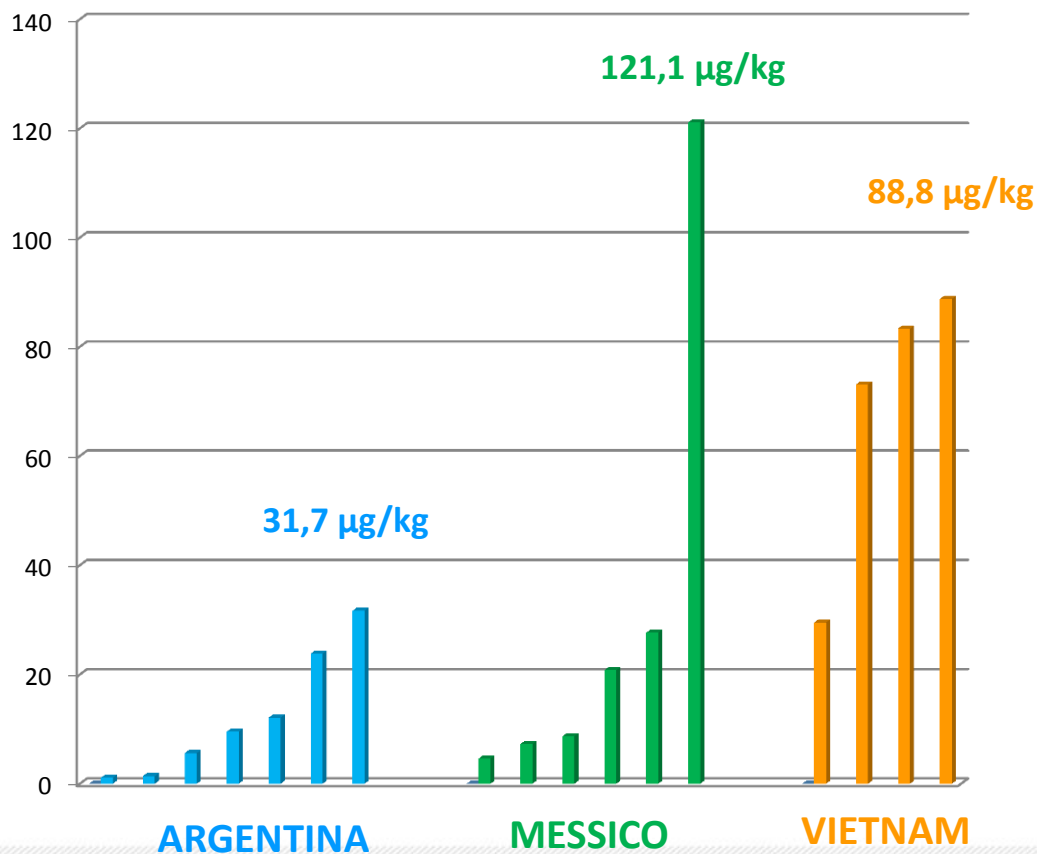




MIELI EXTRA EUROPEI: PROVENIENZA

MIELI EXTRA EUROPEI	20	%
PAs < LOQ	2	10
Presenza di PAs	18	90

SOMMA PAs
($\mu\text{g}/\text{kg}$)



■ Argentina ■ Guatemala ■ Cina
■ Vietnam ■ Messico



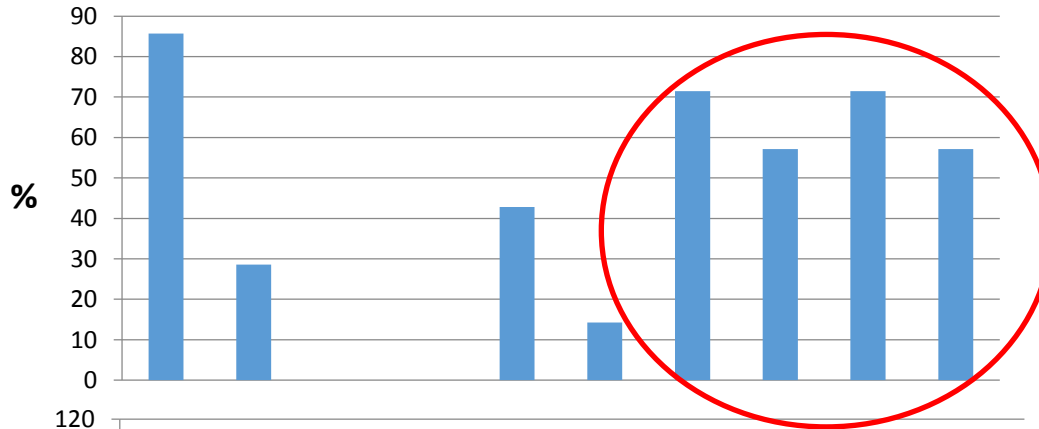
PAs < LOQ



DISTRIBUZIONE ALCALOIDI



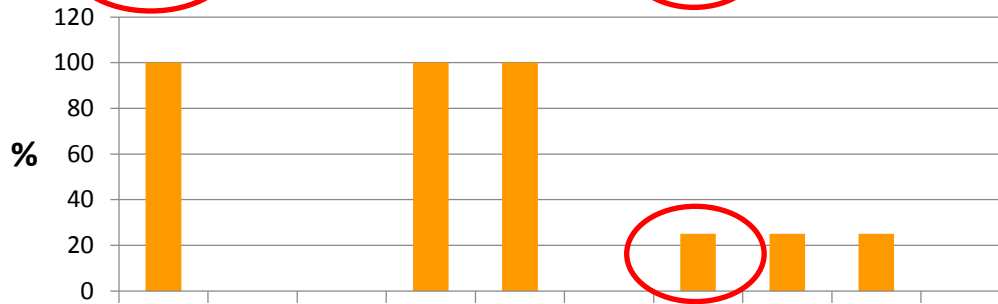
ARGENTINA



MESSICO



VIETNAM





ASSENZA DI PAs



Fam. Asteraceae



Helianthus annuus



Carduus



Taraxacum officinale



Fam. Fabaceae



Sulla coronaria



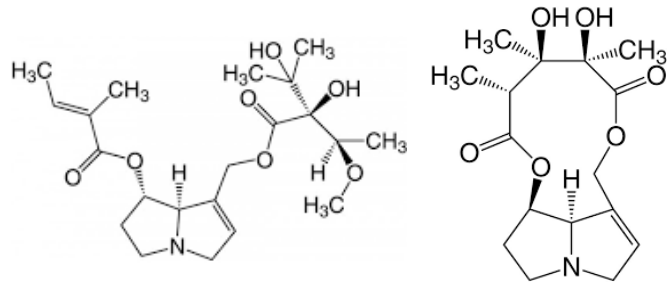
Robinia pseudoacacia

→ FRODE





CONCLUSIONI

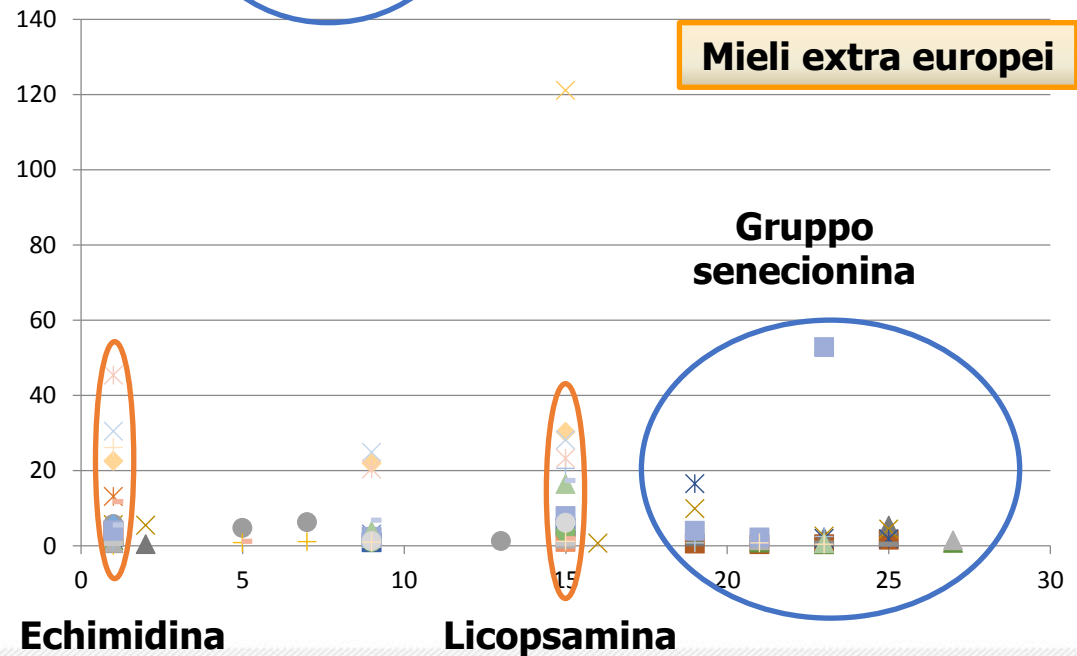
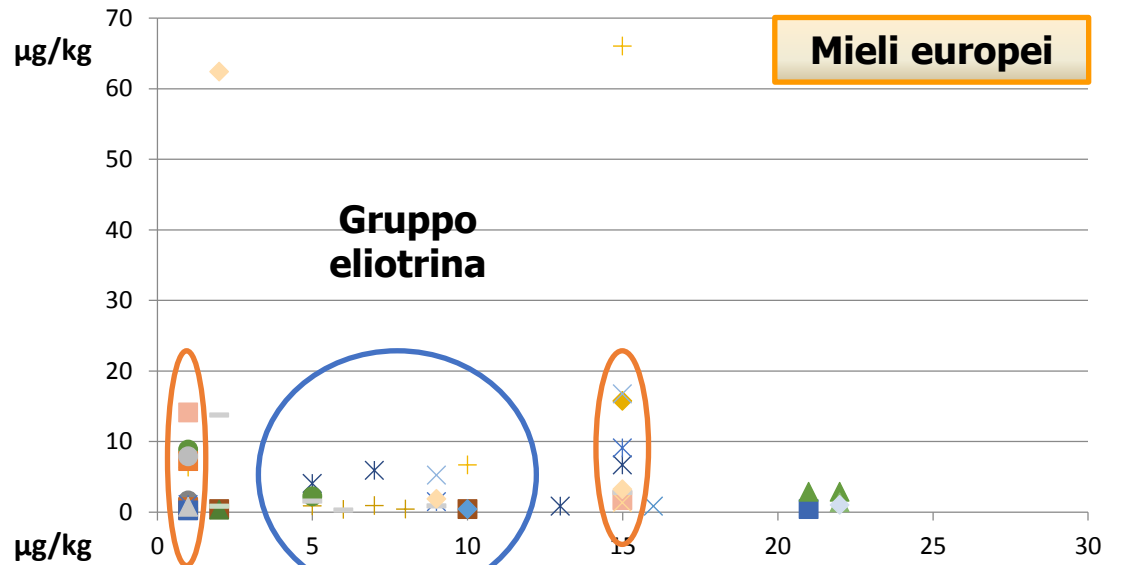


(Lc)

(Mc)

[Group 2B IARC 2002]

- **Lasiocarpina (Lc)** < LOQ nel 98% dei mieli analizzati
- **Monocrotalina (Mc)** < LOQ nel 100% dei mieli analizzati
- **Echimidina e Licopsamina:** PAs maggiormente frequenti nel miele, hanno tossicità inferiore



Echimidina

Licopsamina



CONCLUSIONI



- Tossine naturali / indicatore di frode alimentare
- Non solo miele e prodotti derivati, ma anche **tè e infusi a base di erbe**
- **Assunzione quotidiana** di più alimenti contenenti PAs



- Aumento del consumo di **integratori a base di erbe**



Grazie per l'attenzione...



**Dott. Quaglia
(International Honey
Commission)**



ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE
DELLA LOMBARDIA E DELL'EMILIA ROMAGNA
"BRUNO UBERTINI"
ENTE SANITARIO DI DIRITTO PUBBLICO

Sede Centrale Brescia
Via Bianchi, 9 - 25124 Brescia - Italy
T. +39 030 2290.1 - F. +39 030 2425251
info@izsler.it - www.izsler.it