



MICOTOSSINE E TOSSINE  
VEGETALI NELLA FILIERA  
AGRO-ALIMENTARE

VII CONGRESSO NAZIONALE  
5-7 GIUGNO 2024 - ROMA



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

LA NOSTRA  
ESPERIENZA,  
LA VOSTRA  
**SICUREZZA.**



***Alcaloidi pirrolizidinici nel tè (*Camellia sinensis*) e  
nel miele: valutazione del rischio per la salute del  
consumatore***

***Stefania BONAN LNR-TVN - Reparto Chimico degli Alimenti - Bologna***





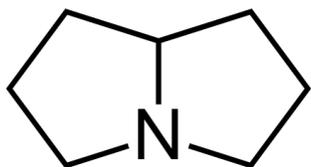
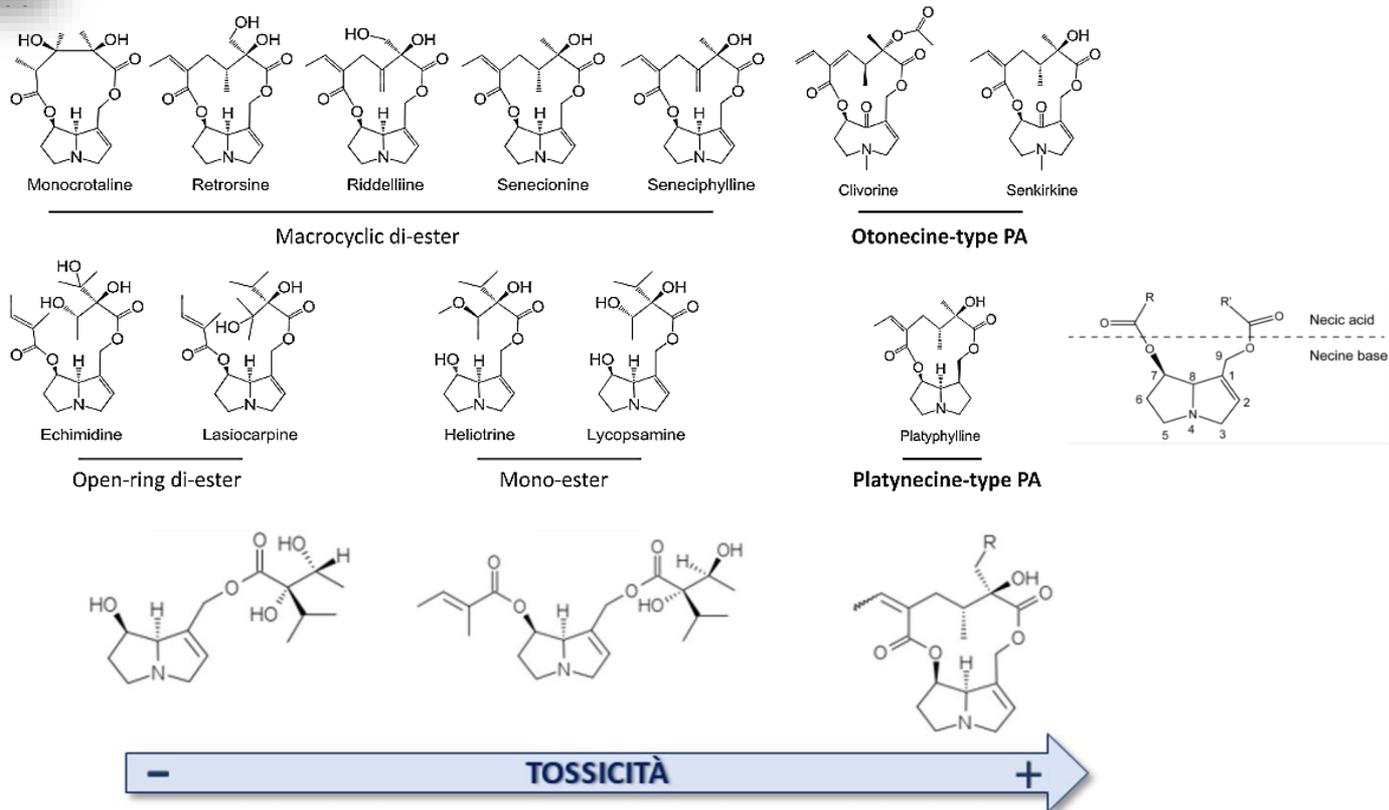
# Cosa sono gli alcaloidi pirrolizidinici?



- Metaboliti secondari prodotti da oltre 6000 piante presenti in tutte le parti del mondo
- Prodotti dalle famiglie Boraginaceae (tutti i generi), Compositae (es. Senecio ed Eupatorium), e Leguminosae (es. Crotalaria)
- Composti eterociclici contenenti azoto, meccanismi di difesa contro erbivori, microorganismi e piante competitive
- Si accumulano in varie porzioni della pianta (semi, infiorescenze, foglie, stelo e radici e polline)
- Presenti in due forme: basi libere e/o *N*-ossidi
- Doppio legame (1,2 Insaturi)

Il contenuto di alcaloidi nella pianta è soggetto a **fluttuazioni** che dipendono dal **clima**, dalle condizioni del **suolo** e dal **momento** del raccolto.

Il contenuto è più alto all'inizio del periodo vegetativo e diminuisce con la maturazione della pianta (fino al 19% del peso secco).





# Identificazione del pericolo: cosa sono gli AP?



REGOLAMENTO (UE) 2023/915 DELLA COMMISSIONE

del 25 aprile 2023

relativo ai tenori massimi di alcuni contaminanti negli alimenti e che abroga il regolamento (CE) n. 1881/2006

(Testo rilevante ai fini del SEE)

Il tenore massimo si riferisce alla somma lower bound dei 21 alcaloidi pirrolizidinici seguenti:

- intermedina/licopsamina, intermedina N-ossido/licopsamina N-ossido, senecionina/senecivermina, senecionina N-ossido/senecivermina N-ossido, senecifillina, senecifillina N-ossido, retrorsina, retrorsina N-ossido, echimidina, echimidina N-ossido, lasiocarpina, lasiocarpina N-ossido, senchirchina, europina, europina N-ossido, eliotrina ed eliotrina N-ossido

e degli ulteriori 14 alcaloidi pirrolizidinici seguenti, di cui si sa che possono coeluire con uno o più dei 21 alcaloidi pirrolizidinici identificati sopra, ricorrendo ad alcuni metodi di analisi attualmente utilizzati:

- indicina, echinatina, rinderina (possibile coeluizione con licopsamina/intermedina), indicina N-ossido, echinatina N-ossido, rinderina N-ossido (possibile coeluizione con licopsamina N-ossido/intermedina N-ossido), integerrimina (possibile coeluizione con senecivermina/senecionina), integerrimina N-ossido (possibile coeluizione con senecivermina N-ossido/senecionina N-ossido), eliosupina (possibile coeluizione con echimidina), eliosupina N-ossido (possibile coeluizione con echimidina N-ossido), spartioidina (possibile coeluizione con senecifillina), spartioidina N-ossido (possibile coeluizione con senecifillina N-ossido), usaramina (possibile coeluizione con retrorsina), usaramina N-ossido (possibile coeluizione con retrorsina N-ossido).

**21+14= 35 molecole**

2.4.4	Tè ( <i>Camellia sinensis</i> ) e tè aromatizzati <sup>(1)</sup> ( <i>Camellia sinensis</i> ) (prodotto essiccato), ad eccezione dei tè e dei tè aromatizzati di cui al punto 2.4.5	150	Per i tè con frutta secca e con erbe essiccate si applica l'articolo 3. Per «tè ( <i>Camellia sinensis</i> ) (prodotto essiccato)» si intende: — tè ( <i>Camellia sinensis</i> ) (prodotto essiccato) ottenuto da foglie, steli e fiori essiccati (in bustina o sfuso) impiegato per la preparazione di tè (prodotto liquido); e — tè solubili. Per gli estratti di tè in polvere occorre applicare un fattore di concentrazione pari a 4.
-------	---	-----	---

➤ Non esiste un limite nel miele

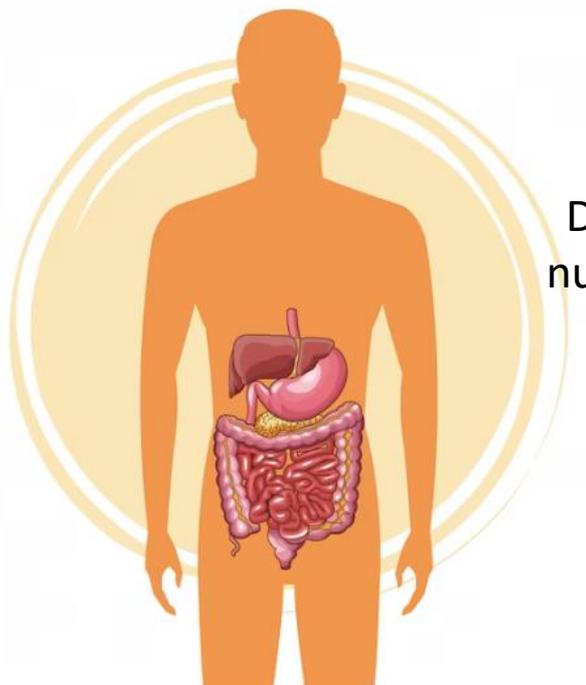


# Identificazione del pericolo



## VIA DI ESPOSIZIONE ORALE

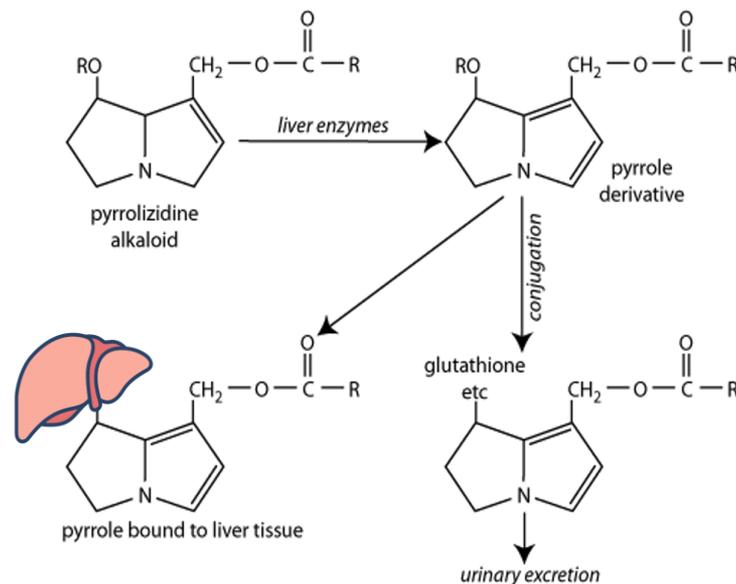
Ingestione di parti della pianta tal quali, consumo di alimenti contaminati e/o integratori



**Metaboliti attivi:**  
Deidrogenazione del nucleo pirrolizidinico a derivati pirrolici (agenti alchilanti – addotti con DNA)

## Assorbimento Distribuzione **Metabolismo** Escrezione

- Rapidamente assorbiti dal tratto gastrointestinale si distribuiscono principalmente nel **fegato**
- N-ossidazione, coniugazione con glutatione e Idrolisi dei gruppi esterei (detossificazione)
- Escrezione urinaria/bile entro poche ore (N-ossidi solubili in acqua)

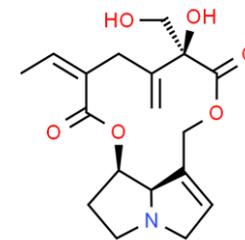




# Identificazione del pericolo. Effetto avverso: Tossicità epatica



**Tossicità cronica:** genotossicità, cancerogenicità  
L'aumento dell'incidenza di emangiosarcoma epatico è stato considerato di rilievo biologico vista la bassa incidenza spontanea di questo tipo di tumore nei ratti (Zwicker, 1995; EFSA, 2017)



Riddelliina

## IARC MONOGRAPHS VOLUME 82

### 5.5 Evaluation

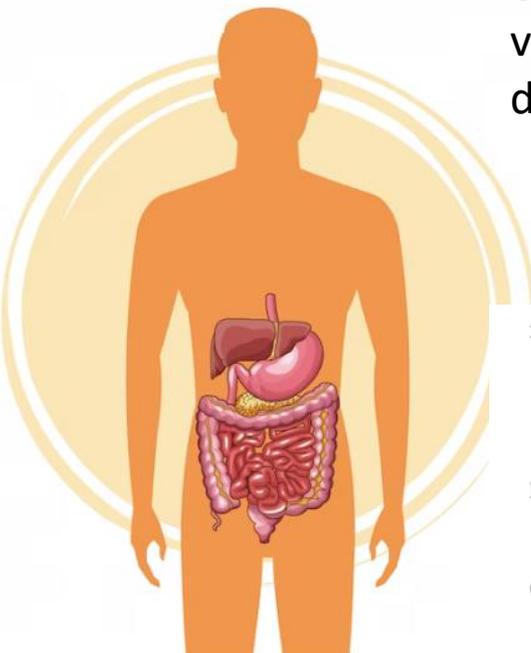
There are no data on the carcinogenicity of riddelliine to humans.

There is *sufficient evidence* in experimental animals for the carcinogenicity of riddelliine.

### Overall evaluation

Riddelliine is *possibly carcinogenic to humans* (Group 2B).

**Tossicità acuta:** malattia veno-occlusiva epatica acuta (VOD). Elevata mortalità. Ostruzione vene epatiche, insufficienza epatica fino a cirrosi. Epidemie in India, Afghanistan (1975, 1976, 2008). La causa erano i semi di piante della specie *Heliotropium*, *Senecio* o *Crotalaria* che contaminò le colture alimentari di base (grano, miglio). Le dosi più basse conosciute associate a tossicità acuta/breve termine nel genere umano variano tra 0,8-3 mg/kg pc al giorno.





# Caratterizzazione del pericolo



La quantificazione dell'effetto avverso in base alla relazione dose-risposta.

VALORI TOSSICOLOGICI DI RIFERIMENTO: punto di partenza per la valutazione tossicologica



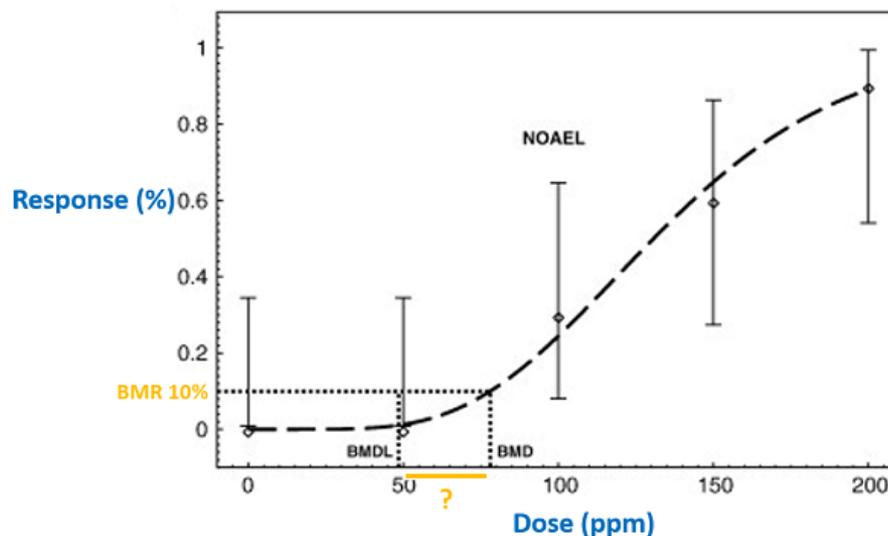
**CRONICO**

**BMDL<sub>10</sub>**

**237 µg/kg pc**

**(somma di AP 1,2-insaturi - EFSA, 2017)**

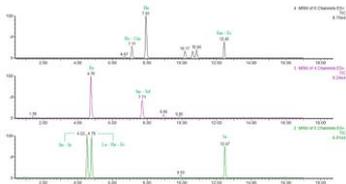
BMDL<sub>10</sub> - Benchmark dose lower limit 10%  
Per effetti cancerogeni: dose in grado di provocare un aumento dell'incidenza di tumori del 10%





## INPUT

Dati analitici



Popolazione di riferimento



Consumo alimento



## ***RACE: Rapid Assessment of Contaminant Exposure***

$$Esposizione(\mu g/kg pc) = \frac{\text{Concentrazione alimento} \left(\frac{\mu g}{g}\right) \times \text{Consumo alimento} \left(\frac{g}{giorno}\right)}{\text{Peso corporeo} (kg)}$$

**Esposizione calcolata**



**BMDL<sub>10</sub>**

## OUTPUT

$$MOE = \frac{BMDL_{10}}{Esposizione}$$



# Caratterizzazione del rischio: Margine di Esposizione (MOE)



The MOE is a tool used by risk assessors to assess possible safety concerns arising from the presence of substances in food and feed when it is not appropriate or possible to establish a HBGV. The MOE is a ratio of:

1. the dose at which a low but measurable adverse effect is observed (called "reference point" or "point of departure"), and
2. the level of exposure to the substance for a given population.

The Scientific Committee stated that an MOE of **10,000 or higher**, if it is based on an animal study, would be of **low concern** from a public health point of view and might reasonably be considered a low priority for risk management actions.

**MOE > 10000**



**MOE < 10000**





# Valutazione dell'esposizione: dati analitici - TÈ



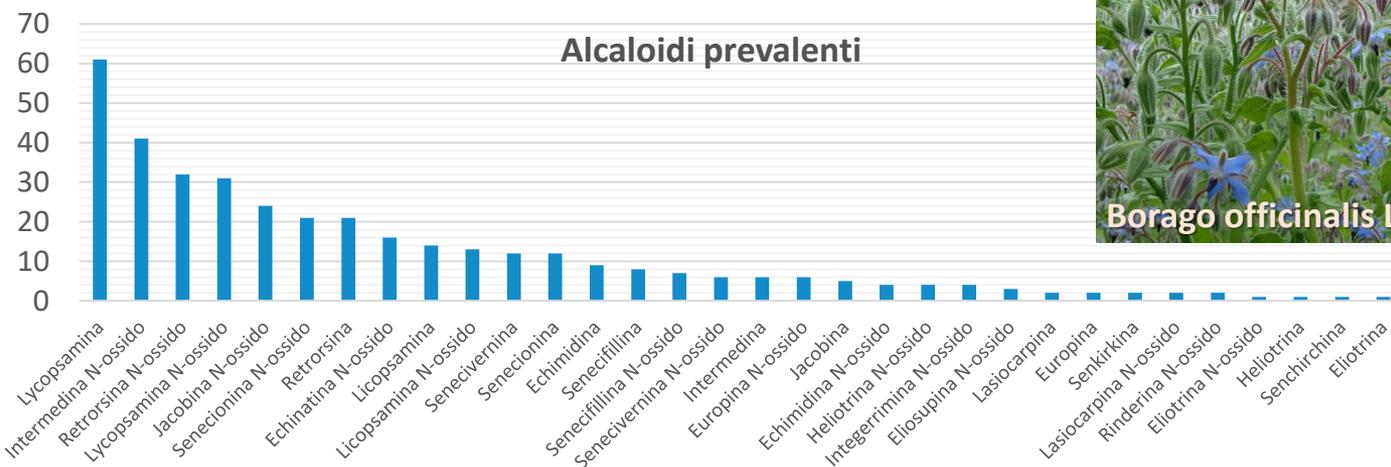
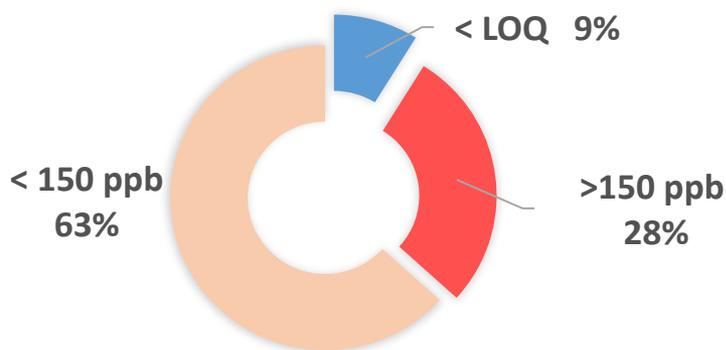
## Dati: dal 2017 a febbraio 2024

(piano di monitoraggio fino al 2020)

Tipologia	N°
Tè nero	74
Tè verde	5
<b>Totale</b>	<b>79</b>
LOQ	5 µg/kg
MEDIA	151 µg/kg
MEDIANA	50 µg/kg
P95	581 µg/kg
MAX	1345 µg/kg

Tè (*Camellia sinensis*) e tè aromatizzati <sup>(12)</sup> (*Camellia sinensis*) (prodotto essiccato), ad eccezione dei tè e dei tè aromatizzati di cui al punto 2.4.5

Per gli alcaloidi pirrolizidinici i tenori massimi si riferiscono alle concentrazioni lower bound, che sono calcolate ipotizzando che tutti i valori inferiori al limite di quantificazione siano pari a zero.



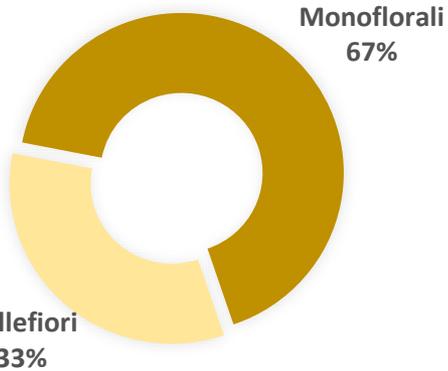
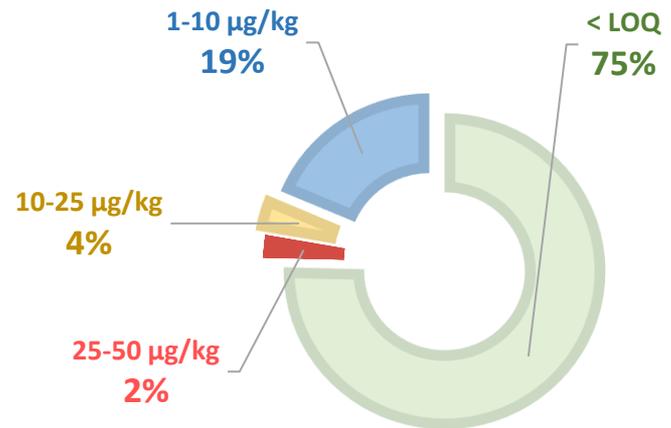


# Valutazione dell'esposizione: dati analitici - MIELE



**Nessun limite di legge!**  
 (500 µg/kg solo per polline, prodotti a base di polline e integratori a base di polline)

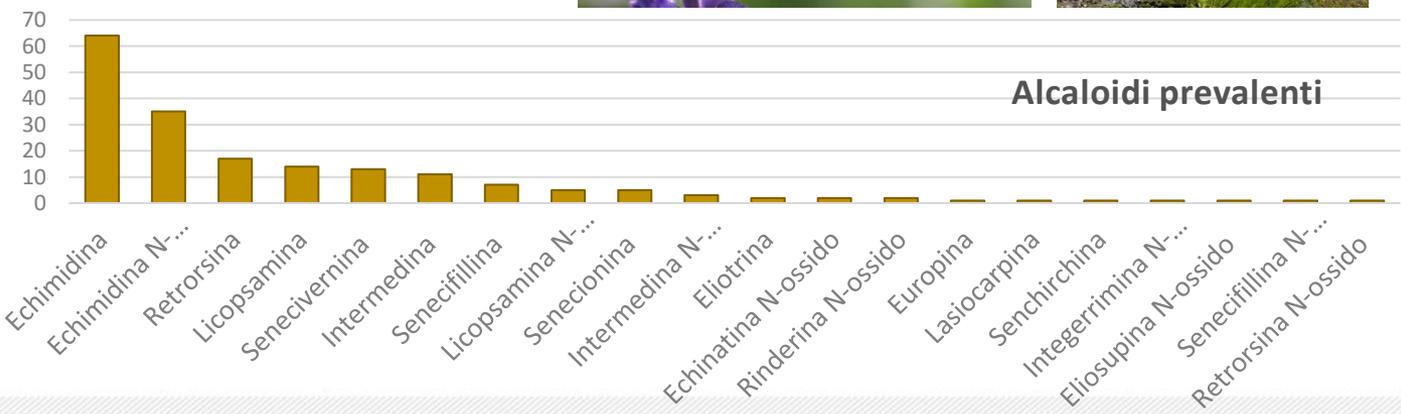
<b>Totale</b>	439
LOQ	1 µg/kg
MEDIA	2 µg/kg
MEDIANA	< 1 µg/kg
P95	12 µg/kg
MAX	50 µg/kg



Tipologia monoflorali	N°
Acacia ( <i>Robinia pseudoacacia L.</i> )	58
Arbutus	5
Asphodelus	17
Betonica ( <i>Stachys officinalis L.</i> )	1
Cherry Tree	5
Chestnut Tree	42
Citrus	13
Clover	9
Coriander	7
Dandelion	11
Eucalyptus	33
Ferula	3
Honeydew	7
Lavander	7
Linden	17
Rhododendron	5
Sulla coronaria	3
Thistle	5
Thymus	2
Altri*	43



**OSSERVATORIO NAZIONALE MIELE**





# Valutazione dell'esposizione: consumi alimentari

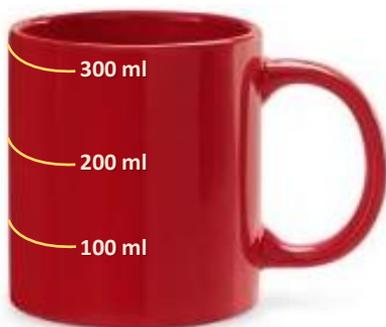


## Chronic Food Consumption Grams per day (g/day) - Consumers only

Survey's country	Survey start year	Survey name	Population Group (L2)	Exposure hierarchy (L1)	Exposure hierarchy (L2)	Exposure hierarchy (L3)	Number of consumers	% consumers	Mean	Standard Deviation	5th percentile	10th percentile	Median	95th percentile	97.5th percentile	99th percentile
Italy	2017	Italian national dietary survey on children population from three months up to nine years old	Other children	Coffee, cocoa, tea and infusions	Hot drinks and similar (coffee, cocoa, tea and herbal infusions)	Tea beverages	52	15.3%	157.19	123.39	68.75	80.00	100.00	367.00	429.00	577.20
Italy	2017	Italian national dietary survey on children population from three months up to nine years old	Toddlers	Coffee, cocoa, tea and infusions	Hot drinks and similar (coffee, cocoa, tea and herbal infusions)	Tea beverages	19	5.9%	175.91	191.51	51.50	75.00	125.00	378.75	643.13	801.75
Italy	2018	Italian national dietary survey on adult population from 10 up to 74 years old	Adolescents	Coffee, cocoa, tea and infusions	Hot drinks and similar (coffee, cocoa, tea and herbal infusions)	Tea beverages	83	30.1%	194.31	133.96	80.00	80.00	135.00	404.50	498.06	720.00
Italy	2018	Italian national dietary survey on adult population from 10 up to 74 years old	Adults	Coffee, cocoa, tea and infusions	Hot drinks and similar (coffee, cocoa, tea and herbal infusions)	Tea beverages	166	22.9%	194.18	175.82	80.00	80.00	135.00	497.50	626.25	963.00
Italy	2018	Italian national dietary survey on adult population from 10 up to 74 years old	Elderly	Coffee, cocoa, tea and infusions	Hot drinks and similar (coffee, cocoa, tea and herbal infusions)	Tea beverages	21	13.5%	192.86	164.75	80.00	100.00	120.00	450.00	590.00	674.00

## Chronic Food Consumption Grams per day (g/day) - All Subjects

Survey's country	Survey start year	Survey name	Population Group (L2)	Exposure hierarchy (L1)	Exposure hierarchy (L2)	Exposure hierarchy (L3)	Number of subjects	Number of consumers	Mean	Standard Deviation	5th percentile	10th percentile	Median	95th percentile	97.5th percentile	99th percentile
Italy	2017	Italian national dietary survey on children population from three months up to nine years old	Other children	Coffee, cocoa, tea and infusions	Hot drinks and similar (coffee, cocoa, tea and herbal infusions)	Tea beverages	339	52	24.11	74.27	0.00	0.00	0.00	135.04	248.44	340.00
Italy	2017	Italian national dietary survey on children population from three months up to nine years old	Toddlers	Coffee, cocoa, tea and infusions	Hot drinks and similar (coffee, cocoa, tea and herbal infusions)	Tea beverages	322	19	10.38	61.48	0.00	0.00	0.00	80.00	125.93	220.00
Italy	2018	Italian national dietary survey on adult population from 10 up to 74 years old	Adolescents	Coffee, cocoa, tea and infusions	Hot drinks and similar (coffee, cocoa, tea and herbal infusions)	Tea beverages	276	83	58.43	115.41	0.00	0.00	0.00	303.66	387.75	471.84
Italy	2018	Italian national dietary survey on adult population from 10 up to 74 years old	Adults	Coffee, cocoa, tea and infusions	Hot drinks and similar (coffee, cocoa, tea and herbal infusions)	Tea beverages	726	166	44.40	117.02	0.00	0.00	0.00	244.59	309.59	507.84
Italy	2018	Italian national dietary survey on adult population from 10 up to 74 years old	Elderly	Coffee, cocoa, tea and infusions	Hot drinks and similar (coffee, cocoa, tea and herbal infusions)	Tea beverages	156	21	25.96	88.68	0.00	0.00	0.00	140.00	267.14	445.14



## Tè

157 - 194 g/giorno consumatori

10 - 58 g/giorno tutti

\* 1g ~ 1ml



**FoodEx2**  
efsa



# Valutazione dell'esposizione: consumi alimentari



**FoodEx2**  
efsa

## Chronic Food Consumption Grams per day (g/day) - Consumers only

Survey's country	Survey start year	Survey name	Population Group (L2)	Exposure hierarchy (L1)	Exposure hierarchy (L2)	Exposure hierarchy (L3)	Number of consumers	% consumers	Mean	Standard Deviation	5th percentile	10th percentile	Median	95th percentile	97.5th percentile	99th percentile
Italy	2017	Italian national dietary survey on children population from three months up to nine years old	Other children	Sugar and similar, confectionery and water-based sweet desserts	Sugar and other sweetening ingredients (excluding intensive sweeteners)	Honey	45	13.3%	9.08	6.86	3.75	3.75	7.50	21.60	26.55	33.72
Italy	2017	Italian national dietary survey on children population from three months up to nine years old	Toddlers	Sugar and similar, confectionery and water-based sweet desserts	Sugar and other sweetening ingredients (excluding intensive sweeteners)	Honey	28	8.7%	5.52	3.90	1.88	1.88	3.75	13.69	15.98	17.19
Italy	2018	Italian national dietary survey on adult population from 10 up to 74 years old	Adolescents	Sugar and similar, confectionery and water-based sweet desserts	Sugar and other sweetening ingredients (excluding intensive sweeteners)	Honey	22	8.0%	7.02	7.30	3.75	3.75	3.75	17.55	26.55	32.22
Italy	2018	Italian national dietary survey on adult population from 10 up to 74 years old	Adults	Sugar and similar, confectionery and water-based sweet desserts	Sugar and other sweetening ingredients (excluding intensive sweeteners)	Honey	96	13.2%	8.23	6.37	3.75	3.75	7.50	22.50	24.94	26.74
Italy	2018	Italian national dietary survey on adult population from 10 up to 74 years old	Elderly	Sugar and similar, confectionery and water-based sweet desserts	Sugar and other sweetening ingredients (excluding intensive sweeteners)	Honey	18	11.5%	11.19	10.00	1.88	3.19	7.50	25.88	35.44	41.18

## Chronic Food Consumption Grams per day (g/day) - All Subjects

Survey's country	Survey start year	Survey name	Population Group (L2)	Exposure hierarchy (L1)	Exposure hierarchy (L2)	Exposure hierarchy (L3)	Number of subjects	Number of consumers	Mean	Standard Deviation	5th percentile	10th percentile	Median	95th percentile	97.5th percentile	99th percentile
Italy	2017	Italian national dietary survey on children population from three months up to nine years old	Other children	Sugar and similar, confectionery and water-based sweet desserts	Sugar and other sweetening ingredients (excluding intensive sweeteners)	Honey	339	45	1.20	3.95	0.00	0.00	0.00	7.50	11.25	17.06
Italy	2017	Italian national dietary survey on children population from three months up to nine years old	Toddlers	Sugar and similar, confectionery and water-based sweet desserts	Sugar and other sweetening ingredients (excluding intensive sweeteners)	Honey	322	28	0.48	1.92	0.00	0.00	0.00	3.75	7.50	8.84
Italy	2018	Italian national dietary survey on adult population from 10 up to 74 years old	Adolescents	Sugar and similar, confectionery and water-based sweet desserts	Sugar and other sweetening ingredients (excluding intensive sweeteners)	Honey	276	22	0.56	2.77	0.00	0.00	0.00	3.75	7.50	9.00
Italy	2018	Italian national dietary survey on adult population from 10 up to 74 years old	Adults	Sugar and similar, confectionery and water-based sweet desserts	Sugar and other sweetening ingredients (excluding intensive sweeteners)	Honey	726	96	1.09	3.62	0.00	0.00	0.00	7.50	11.25	19.97
Italy	2018	Italian national dietary survey on adult population from 10 up to 74 years old	Elderly	Sugar and similar, confectionery and water-based sweet desserts	Sugar and other sweetening ingredients (excluding intensive sweeteners)	Honey	156	18	1.29	4.88	0.00	0.00	0.00	8.69	11.73	21.44



# Miele

5-11 g/giorno consumatori

0,5 – 1,3 g/giorno popolazione generale

1 cucchiaino ~ 5g



# VALUTAZIONE DEL RISCHIO: SCENARI DI ESPOSIZIONE



## SCENARIO I

**CONSUMO DI TÈ  
DA SOLO**



Tea — Preparation of liquor for use in sensory tests

*Thé — Préparation d'une infusion en vue d'examens organoleptiques*

- Infusione (ISO 3103:2019) 2 grammi prodotto secco in 100 ml di acqua bollente
- 100% della concentrazione di pirrolizidinici rilevata passa nell'acqua

## SCENARIO II

**CONSUMO DI  
MIELE DA SOLO**



## SCENARIO III

**CONSUMO DI TÈ  
CON MIELE**



**SOLO CONSUMATORI**



# VALUTAZIONE DEL RISCHIO: SCENARI DI ESPOSIZIONE



**SCENARIO I**

**CONSUMO DI TÈ DA SOLO**



**MEDIA LB 151 µg/kg**

**P95 581 µg/kg**



**A**

$$\frac{(media\ tè * 2\ g)}{100\ mL\ acqua} = 3,0\ \mu g/L$$

**B**

$$\frac{(P95\ tè * 2\ g)}{100\ mL\ acqua} = 11,6\ \mu g/L$$

Food description	Population group	Output Mean	Output Median	Output P95
<b>FoodEX L3</b> Tea Beverages	Toddlers	7067	7067	4108
	Other children	11806	17236	3611
	Adolescents	22765	26860	9733
	Adults	34187	46083	13166
	Elderly	32994	41786	17222
	Very elderly	37504	43713	18328

Food description	Population group	Output Mean	Output Median	Output P95
<b>FoodEX L3</b> Tea Beverages	Toddlers	1827	1827	1062
	Other children	3053	4457	933
	Adolescents	5887	6946	2517
	Adults	8841	11918	3405
	Elderly	8533	10806	4453
	Very elderly	9699	11305	4740



# VALUTAZIONE DEL RISCHIO: SCENARI DI ESPOSIZIONE



**SCENARIO II**

**CONSUMO DI MIELE DA SOLO**



**MEDIA LB 2  $\mu\text{g}/\text{kg}$**



Food description	Population group	Output Mean	Output Median	Output P95
<b>FoodEX L3</b> Honey	Toddlers	120862	130350	62212
	Other children	206811	260700	95711
	Adolescents	399414	408825	284400
	Adults	608041	835382	205400
	Elderly	736472	711000	343650
	Very elderly	451721	515475	120475

**MAX 50  $\mu\text{g}/\text{kg}$**



Food description	Population group	Output Mean	Output Median	Output P95
<b>FoodEX L3</b> Honey	Toddlers	4834	5214	2488
	Other children	8272	10428	3828
	Adolescents	15976	16353	11376
	Adults	24321	33415	8216
	Elderly	29458	28440	13746
	Very elderly	18068	20619	4819



# VALUTAZIONE DEL RISCHIO: SCENARI DI ESPOSIZIONE



**SCENARIO III**

**CONSUMO DI TÈ  
CON MIELE**



**MEDIA LB TÈ 151 µg/kg  
10 g MIELE MEDIA LB 2 µg/kg**

**MEDIA LB TÈ 151 µg/kg  
10 g MIELE MAX 50 µg/kg**



**A** 
$$\frac{(media\ tè * 2\ g) + (media\ miele * 10\ g)}{100\ mL\ acqua} = 3,2\ \mu g/L$$

**B** 
$$\frac{(media\ tè * 2\ g) + (max\ miele * 10\ g)}{100\ mL\ acqua} = 8\ \mu g/L$$

Food description	Population group	Output Mean	Output Median	Output P95
<b>FoodEX L3</b> Tea Beverages	Toddlers	6625	6625	3851
	Other children	11068	16159	3385
	Adolescents	21342	25181	9125
	Adults	32050	43203	12343
	Elderly	30932	39175	16145
	Very elderly	35160	40981	17182

Food description	Population group	Output Mean	Output Median	Output P95
<b>FoodEX L3</b> Tea Beverages	Toddlers	2650	2650	1540
	Other children	4427	6463	1354
	Adolescents	8537	10072	3650
	Adults	12820	17281	4937
	Elderly	12373	15670	6458
	Very elderly	14064	16392	6873



# VALUTAZIONE DEL RISCHIO: CONCLUSIONI



Population	Solo tè (media) AP = 3 µg/L			Tè con miele (medie) AP = 3,2 µg/L			Tè (media) con miele (max conc) AP = 8 µg/L			Solo tè (P95) AP = 11,6 µg/L		
	Mean	Median	P95	Mean	Median	P95	Mean	Median	P95	Mean	Median	P95
Toddlers	7067	7067	4108	6625	6625	3851	2650	2650	1540	1827	1827	1062
Other children	11806	17236	3611	11068	16159	3385	4427	6463	1354	3053	4457	933
Adolescents	22765	26860	9733	21342	25181	9125	8537	10072	3650	5887	6946	2517
Adults	34187	46083	13166	32050	43203	12343	12820	17281	4937	8841	11918	3405
Elderly	32994	41786	17222	30932	39175	16145	12373	15670	6458	8533	10806	4453
Very elderly	37504	43713	18328	35160	40981	17182	14064	16392	6873	9699	11305	4740



- Limite presente solo per il tè essiccato
- Alcaloidi presenti nel 91% dei campioni di tè (nero) analizzati
- Le concentrazioni possono essere molto elevate (anche oltre i 1000 µg/kg)
- Limiti per tè già pronto da bere solo se destinato alla prima infanzia (1 µg/l)
- Non ci sono limiti sul miele
- Consumo di miele da solo non pone rischi rilevanti (toddlers grandi consumatori di miele?)
- AP non rilevati nel 75% dei mieli analizzati (n=439)
- Aggiunta di miele contaminato a 50 µg/kg potrebbe aggiungere un rischio per i grandi consumatori

# *Grazie per l'attenzione!*



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