

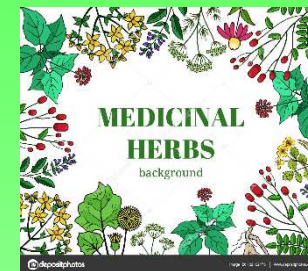
*Progetto di ricerca corrente del Ministero della Salute*  
*IZSLT 10/12 RC*

**"APPLICAZIONE DI METODOLOGIE  
DIAGNOSTICHE PER LA DETERMINAZIONE DI  
CONTAMINANTI CHIMICI NELLE MATRICI  
VEGETALI CON PARTICOLARE ATTENZIONE  
ALLE PIANTE OFFICINALI UTILIZZATE COME  
INTEGRATORI ALIMENTARI"**



Katia Russo e Dario Lucchetti - IZSLT  
Roma - 20 Giugno 2017

## Motivazioni del progetto:



-Anche se il settore delle piante officinali (aromatiche, medicinali, condimentarie, da profumo) è da ritenersi una coltura secondaria, considerando che le specie coltivate sono aumentate di circa **10 volte**, negli ultimi **10 anni**, non è da sottovalutare il problema legato all'assunzione di sostanze attive nella dieta di queste matrici sia come integratori che come supplementazioni

-Assenza di monitoraggi ufficiali sia Europei che Nazionali, riguardanti la contaminazione di questo tipo di matrici

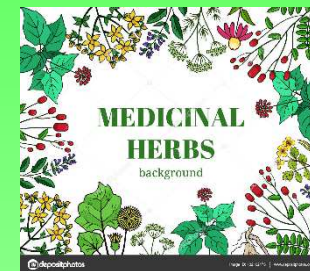
-L'Italia ha una lunga tradizione nell'uso di piante officinali (medicinali, aromatiche e da profumo), ma il settore non è stato mai completamente normato.

-«Interessato», perché personalmente coinvolta come fruitrice



Katia Russo e Dario Lucchetti - IZSLT Roma - 20 Giugno 2017





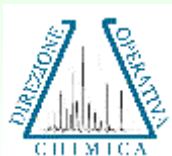
## Obiettivi del progetto:

Il progetto si prefiggeva di caratterizzare e definire i livelli dei contaminanti considerati: PESTICIDI, METALLI PESANTI, MICOTOSSINE, nelle matrici analizzate e di mettere in relazione il profilo del contaminante con la possibile tipologia di matrice, per le varie zone di provenienza. In un secondo momento sono state effettuate anche analisi per valutare l'eventuale irraggiamento dei campioni selezionati.

## Gli artefici del progetto:

IZSLT → Dott.ssa K. Russo, Dott. F. Busico, Dott. A. Ubaldi, Dott.ssa D. Triolone, Dott. P. Di Giustino, Dott. D. Lucchetti, Dott.ssa M. Mancuso, Dott. F. Busico, Dott. B. Neri, Sig. S. Vaccari, Dott.ssa R. Cavallina, Dott.ssa M. T. Di Schiavi

ISS → Dott. P. Stacchini, Dott.ssa S. Morelli, Dott.ssa E. Sagratella, Dott. A. Pastorelli, Dott.ssa A. Sepe



Katia Russo e Dario Lucchetti - IZSLT Roma - 20 Giugno 2017

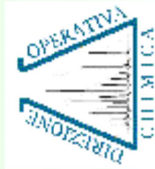


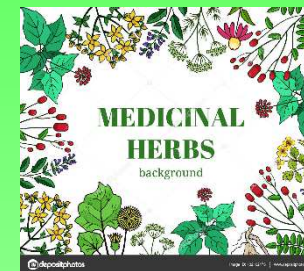
# CONTAMINANTI CHIMICI - PIANTE OFFICINALI

Sono stati reperiti 47 campioni acquistati in erboristerie e mercati rionali, provenienti da produzioni Italiane, Europee ed Extracomunitarie



Matrice	Codice	Analisi Eseguite				Numero di campioni
Achillea	AC	Pesticidi	Micotossine	-	Irraggiamento	1
Alloro Lauro Nobilis	LA	Pesticidi	Micotossine	Metalli pesanti	Irraggiamento	2
Altea Officinalis	AL	Pesticidi	Micotossine	Metalli pesanti	Irraggiamento	1
Angelica	AG	Pesticidi	Micotossine	Metalli pesanti	Irraggiamento	1
Anice Pimpinella Anisum	AN	Pesticidi	Micotossine	Metalli pesanti	Irraggiamento	3
Anice Stellato	AS	Pesticidi	Micotossine	Metalli pesanti	Irraggiamento	4
Artemisia	AR	Pesticidi	Micotossine	Metalli pesanti	Irraggiamento	1
Bardana	BA	Pesticidi	Micotossine	Metalli pesanti	Irraggiamento	3
Betulla	BE	Pesticidi	Micotossine	-	Irraggiamento	2
Carciofo	CA	Pesticidi	Micotossine	Metalli pesanti	Irraggiamento	2
Equiseto Arvense	EQ	Pesticidi	Micotossine	Metalli pesanti	Irraggiamento	2
Eucalipto	EU	Pesticidi	Micotossine	-	Irraggiamento	3
Fucus	FU	Pesticidi	Micotossine	-	Irraggiamento	1
Ginepro	GI	Pesticidi	Micotossine	-	Irraggiamento	1
Iperico	IP	Pesticidi	Micotossine	Metalli pesanti	Irraggiamento	2
Melissa	ME	Pesticidi	Micotossine	-	Irraggiamento	2
Passiflora	PF	Pesticidi	Micotossine	Metalli pesanti	Irraggiamento	3
Rosmarino	RO	Pesticidi	Micotossine	-	Irraggiamento	2
Tarassaco	TA	Pesticidi	Micotossine	Metalli pesanti	Irraggiamento	3
The Verde	TV	Pesticidi	Micotossine	Metalli pesanti	Irraggiamento	3
Tino	TI	Pesticidi	Micotossine	-	Irraggiamento	1
Tribulus	TR	Pesticidi	Micotossine	-	Irraggiamento	1
Verbena Odorosa	VE	Pesticidi	Micotossine	-	Irraggiamento	2
<b>Totale Campioni</b>						<b>47</b>





## IRRAGGIAMENTO

L'irradiazione è un trattamento fisico con radiazioni ionizzanti ad alta energia, che può essere in alcuni casi applicato agli alimenti allo scopo di:

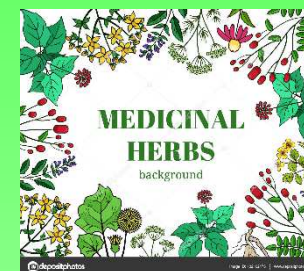
- inattivare gli enzimi degradativi presenti negli alimenti ritardandone il deterioramento;
- ridurre la carica microbica nel prodotto alimentare e, quindi, ridurre i rischi sanitari associati alla presenza di microrganismi patogeni;
- prolungare la durata di conservazione dei prodotti.

Il decreto legislativo 30 Gennaio 2001 n° 94 consente il trattamento con radiazioni ionizzanti solo per erbe aromatiche essiccate, spezie e condimenti vegetali. Pertanto non è ammesso l'uso dell'irradiazioni per le materie prime vegetali fresche.



Katia Russo e Dario Lucchetti - IZSLT Roma - 20 Giugno 2017





## IRRAGGIAMENTO - RISULTATI

1. E' stata eseguita la **luminescenza fotostimolata** come analisi di screening per valutare l'irraggiamento dei campioni di erbe officinali da infusione. Sei di questi campioni sono risultati positivi o dubbi.

Matrice	Terminal Caunt	Result
Altea Officinalis A	1153 $\pm$ 70	Intermediate
Altea Officinalis B	1192 $\pm$ 71	Intermediate
Angelica A	754 $\pm$ 67	Intermediate
Angelica B	995 $\pm$ 69	Intermediate
Bardana 1A	8634 $\pm$ 111	Positive
Bardana 1B	5409 $\pm$ 96	Positive
Bardana 2A	922 $\pm$ 69	Intermediate
Bardana 2B	823 $\pm$ 68	Intermediate
Tarassaco 2A	1246 $\pm$ 71	Intermediate
Tarassaco 2B	1246 $\pm$ 71	Intermediate
Tarassaco 3A	1635 $\pm$ 74	Intermediate
Tarassaco 3B	1508 $\pm$ 73	Intermediate

2. I campioni in questione sono stati successivamente sottoposti anche ad analisi di conferma mediante **Risonanza**

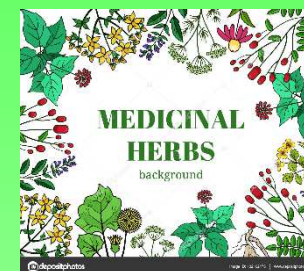
**Paramagnetica Elettronica (EPR)** e sono risultati **TUTTI NEGATIVI**.



Katia Russo e Dario Lucchetti - IZSLT Roma - 20 Giugno 2017



## METALLI PESANTI



I principali rischi per le materie prime di origine vegetale, in materia di metalli pesanti, riguardano le contaminazioni da piombo (**Pb**), cadmio (**Cd**), e arsenico (**As**).

Né a livello comunitario né nazionale, sono stati imposti limiti specifici per le contaminazioni da metalli pesanti per le erbe usate in infusione a scopo alimentare.

*Limiti di legge di metalli pesanti in mg/Kg.*

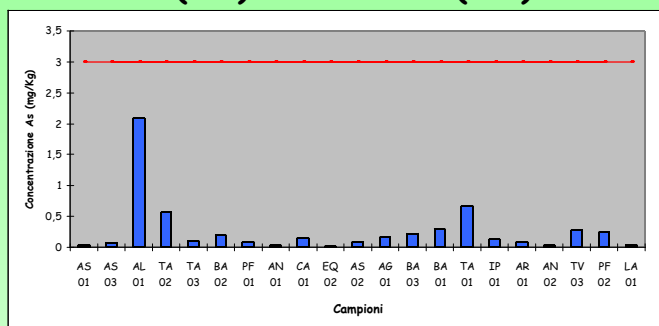
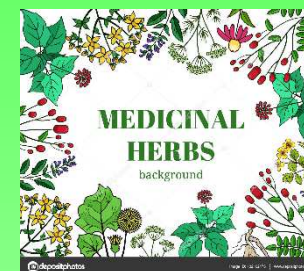
CATEGORIA	RIFERIMENTO LEGISLATIVO	LIMITI		
		Pb mg/Kg	Cd mg/Kg	As mg/Kg
AROMI	Decreto legislativo 25 gennaio 1992, n.107	10.0	1.0	3.0
MATERIE PRIME VEGETALI	Farmacopea Europea, 8° ed.	5.0	1.0	-
	THIE (Numero 5, 27 giugno 2014)	5.0	1.0	-
LINEE GUIDA ASSOERBE <sup>(1)</sup>		5.0	1.0	3.0

<sup>(1)</sup> i valori si applicano alle materie prime vegetali, eccetto quelle per le quali il Reg. (CE) 1881/2006 ha stabilito specifici limiti

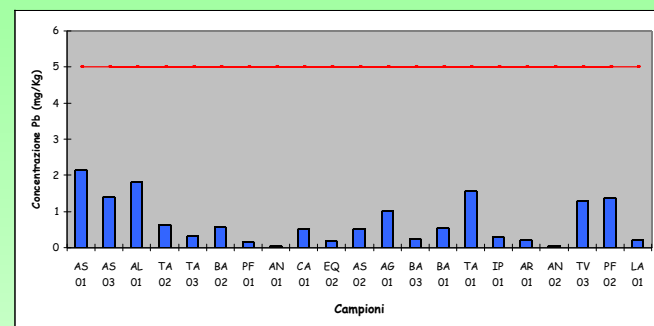
L'**Arsenico**, in particolar modo ingerito a lungo termine, nella sua forma **inorganica** (la più tossica), è stata associata a comparsa di lesioni cutanee, malattie cardiovascolari, alterazioni del metabolismo del glucosio e aumentato rischio di sviluppare tumore al polmone e alle vie urinarie, come sottolineato nel parere espresso nel 2009 dal gruppo di esperti scientifici sui contaminanti nella catena alimentare (CONTAM) dell'EFSA (12)

## METALLI PESANTI - RISULTATI

L'analisi dei metalli pesanti è stata eseguita solo su 21 dei 47 campioni a disposizione, ovvero quelli in cui era già stata rilevata la contaminazione da pesticidi e/o micotossine, per problemi di insufficienza campionaria. I risultati ottenuti sono stati per il 90% superiori ai rispettivi limiti di quantificazione ( $LOQ_{As} = 0.010$  mg/Kg;  $LOQ_{Pb} = 0.030$  mg/Kg;  $LOQ_{Cd} = 0.020$  mg/kg) ovvero si è rilevata presenza di Arsenico (As), Piombo (Pb) e Cadmio (Cd) in 19 dei 21 campioni analizzati.



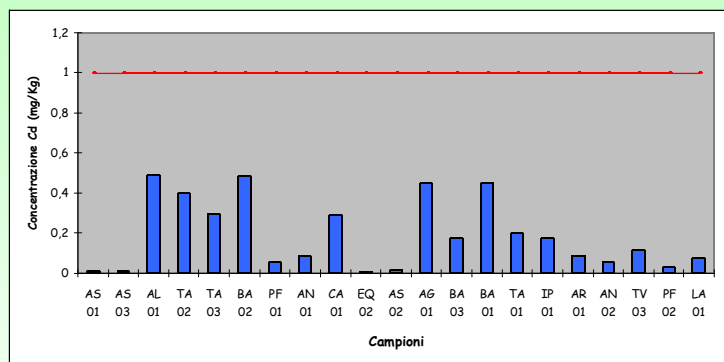
Nonostante ciò, i valori di Arsenico, Piombo e Cadmio sono tutti ben al di sotto del relativo limite di legge.



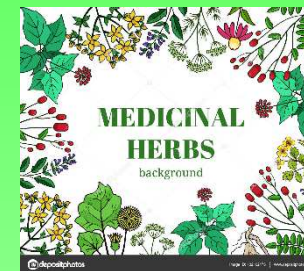
As

Pb

Cd



Katia Russo e Dario Lucchetti - IZSLT Roma - 20 Giugno 2017



## MICOTOSSINE

- L'altro gruppo di contaminanti è quello delle micotossine. Le micotossine sono sostanze biochimiche prodotte dal metabolismo secondario di alcuni funghi e muffe che colonizzano le derrate alimentari. Tali metaboliti, detti "secondari", non sono essenziali per la crescita, lo sviluppo e la riproduzione dell'organismo che li produce, ma svolgono per lo più un'azione di difesa della pianta contro predatori (erbivori, patogeni, etc...), risultando così più o meno tossici per gli animali e l'uomo. Alcuni di essi, infatti, mostrano caratteristiche di genotossicità, cancerogenicità, immunotossicità, mutegenicità, nefrotossicità e teratogenicità.

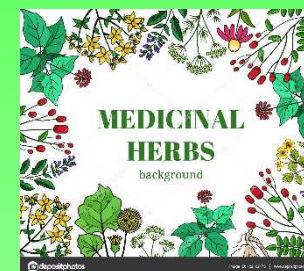
- Le **Aflatossine** e l'**Ocratossina A**, tra le sostanze maggiormente responsabili della contaminazione da micotossine delle materie prime vegetali, sono le molecole monitorate in questo progetto di ricerca.



Katia Russo e Dario Lucchetti - IZSLT Roma - 20 Giugno 2017



# MICOTOSSINE - LIMITI MASSIMI DI RESIDUO AMMESSI



*Limiti di Aflatossine in ppb ( $\mu\text{g/Kg}$ ) proposti dalle Linee guida.*

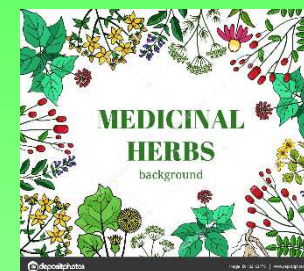
CATEGORIA	RIFERIMENTO LEGISLATIVO	LIMITI	
		AFLATOSSINE TOTALI	AFLATOSSIN A B1
PIANTE INFUSIONALI	Circolare Ministeriale N. 10, 1999	10.0 mg/Kg	5.0 mg/Kg

*Limiti di Ocratossina A in ppb ( $\mu\text{g/Kg}$ ) proposti dalle Linee guida*

CATEGORIA	RIFERIMENTO LEGISLATIVO	LIMITI
Le seguenti specie di spezie: Pepe Noce Moscate Zenzero Curcuma Miscela di spezie contenenti una o più delle suddette spezie, incluso peperoncino	Regolamento (CE) n. 105/2010 <sup>(20)</sup>	15.0 mg/Kg
RADICE DI LIQUIRIZIA, INGREDIENTE PER INFUSIONI A BASE DI ERBE	Regolamento (UE) n.105/2010	20.0 mg/Kg
Caspicum spp. (suoi frutti secchi, interi o macinati, tra cui peperoncini, peperoncini in polvere, pepe di Caienna e paprica)	Regolamento (UE) n.594/2012 <sup>(21)</sup>	15.0 mg/Kg

Katia Russo e Dario Lucchetti - IZSLT Roma - 20 Giugno 2017

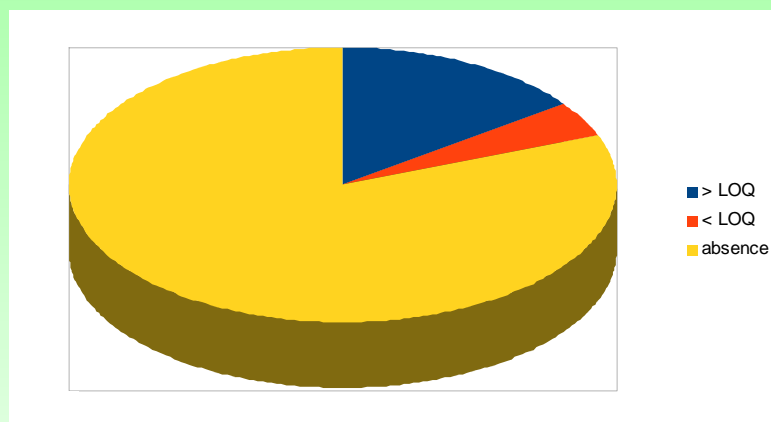
## MICOTOSSINE - RISULTATI



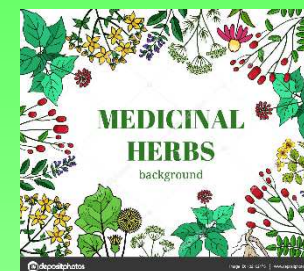
Tutti i campioni raccolti (47) sono stati analizzati sia per Aflatossine che per Ocratossina A.

Il grafico a torta offre subito un colpo d'occhio immediato sui livelli di contaminazione da micotossine delle erbe officinali da infusione analizzate.

Nella tabella sono riportati i campioni nei quali è stata rilevata presenza di micotossine e i rispettivi livelli.

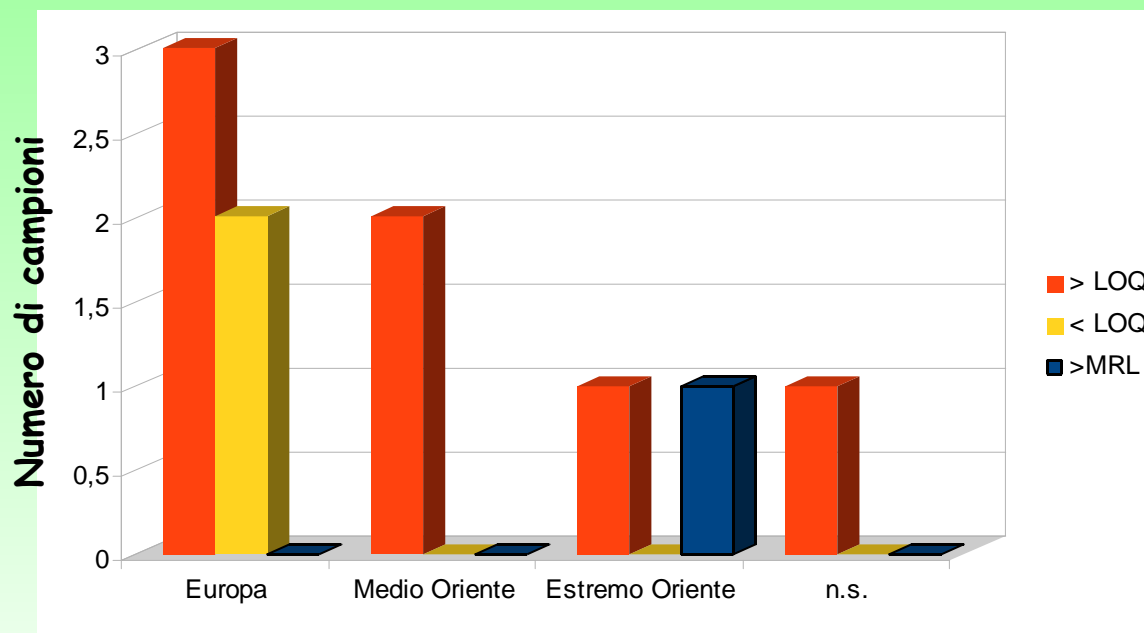


SAMPLES	MICOTOXINS (µg/kg)				
	Aflatoxin B1	Aflatoxin B2	Aflatoxin G1	Aflatoxin G2	Ochratoxin A
<i>Angelica archangelica</i> L. AG01			3,14		
<i>Artemisia absinthium</i> AR01	0,58			0,53	
<i>Bardana Arctium lappa</i> BA03					46,51
<i>Cynara scolymus</i> CA01		< LOQ			
<i>Equisetum arvense</i> EQ02		< LOQ			
<i>Passiflora caerulea</i> PF01					10,91
<i>Passiflora caerulea</i> PF02					1,75
<i>Pimpinella anisum</i> AN02					3,13
<i>Taraxacum officinale</i> TA01					2,4

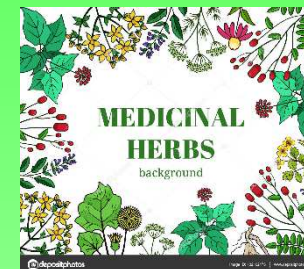


## MICOTOSSINE - RISULTATI

Dei 7 campioni contaminati da Micotossine il 70% proviene da paesi dell'Unione Europea a tal riguardo è riportato l'istogramma che rappresenta la distribuzione dei campioni con presenza di micotossine in relazione alla zona di produzione. La maggior parte di questi (89%) sono prodotti di coltivazione.



## PESTICIDI



- L'impiego in agricoltura di prodotti chimici di sintesi (insetticidi, fungicidi, erbicidi etc..) per difendere le produzioni agricole ha permesso un aumento delle produzioni agricole, ma ha causato profonde modifiche nell'equilibrio degli ecosistemi e gravi ripercussioni sulla salubrità dei prodotti.
- Il rischio per la salute, correlabile all'assunzione di contaminati attraverso alimenti di origine vegetale, è stato stimato per un elevato numero di sostanze.

Regolamento (CE) n. 396/2005 del Parlamento europeo e del Consiglio del 23 febbraio 2005 concernente i livelli massimi di residui di antiparassitari nei o sui prodotti alimentari e mangimi di origine vegetale e animale e che modifica la direttiva

91/414/CEE<sup>(43)</sup> del Consiglio (e nuovi aggiornamenti) e successivi

Nel sito dell'Unione Europea ( [http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database\(public/?event=homepage&language=IT](http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database(public/?event=homepage&language=IT)

) si può inoltre consultare la Banca dati dei pesticidi, che riporta per ogni singolo prodotto, gli LMR riferiti a ciascuna sostanza attiva.

- Infine si introduce il rispettivo "coefficiente di disidratazione"

$$\text{Coeff. di Disidratazione} = 1/(1 - (\%H_2O/100))$$



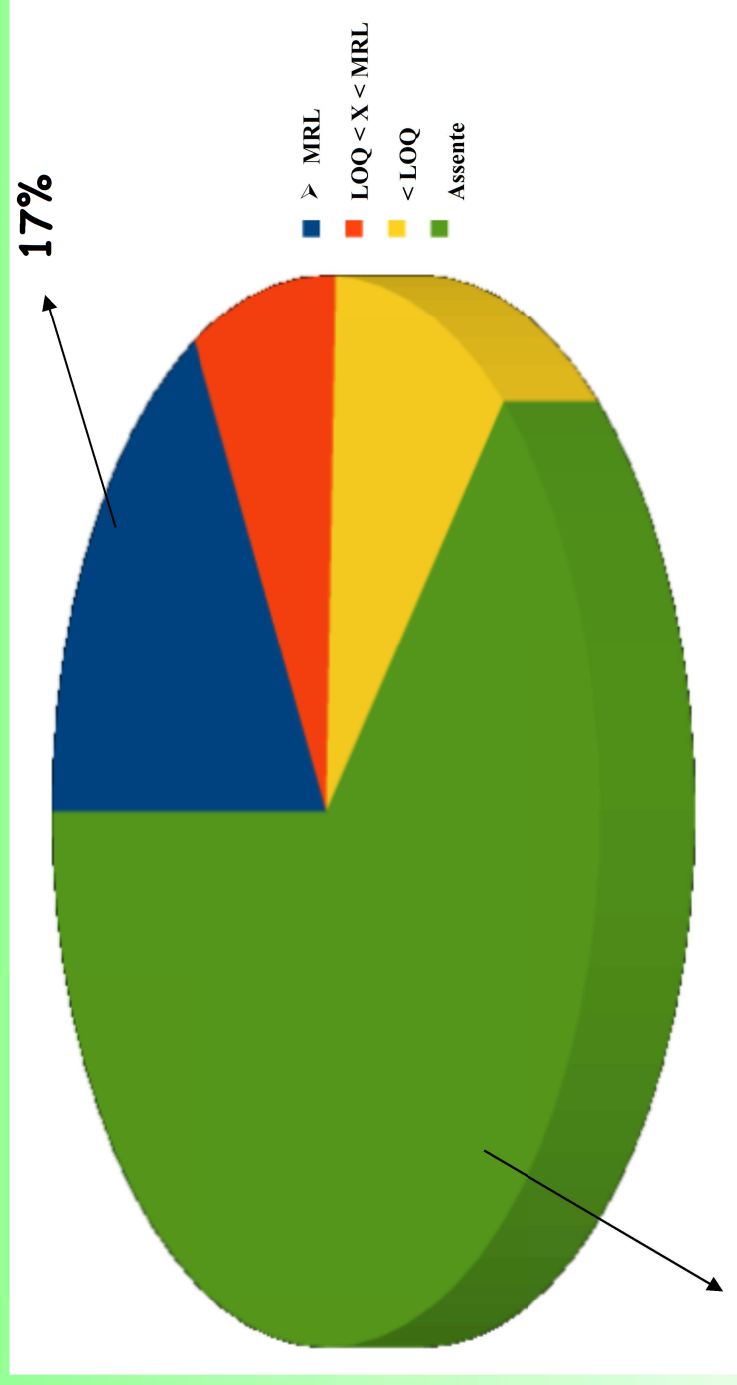
Katia Russo e Dario Lucchetti - IZSLT Roma - 20 Giugno 2017





## PESTICIDI - RISULTATI

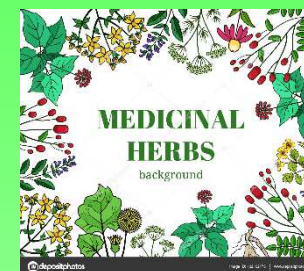
Sono stati analizzati 47 campioni di piante officinali per un numero di 138 pesticidi. Il 64% dei campioni non ha rivelato presenza di pesticidi.



64%

## PESTICIDI - RISULTATI

I dati ottenuti, per i 17 campioni con presenza di pesticidi, sono stati rappresentati in tabella. Per 8 di questi campioni (corrispondente al 17% dei campioni analizzati), la concentrazione di almeno un pesticida, è superiore al limite di legge.



SAMPLE	PESTICIDES GC mg/kg																	PESTICIDES LC (mg/kg)						
	Endosulfan Sulphate	Quinoxifen	Iprodione	Boscalid	Trifluralin	Permethrin	Quinalphos	HCB	Kresoxim methyl	Difenoconazole	Carbaryl	Tolclofos methyl	4,4'-DDT	Chlorpyrifos	4,4'-DDD + 2,4'-DDT	Tebuconazole	Chlorfenapyr	Bifenthrin	Thiabendazole	Imazalil	Metadaxyl + Metadaxyl M	Fenthion Sulfone	Metopropim 2OH propyl	Thionazin
Althaea officinalis AL01								< LOQ	0,126						< LOQ									
Angelica archangelica L. AG01				0,014	0,026			0,010	0,551	< LOQ		< LOQ			< LOQ									
Bardana Arctium lappa BA01							0,010								< LOQ							0,75		
Bardana Arctium lappa BA02							0,010						0,058		< LOQ							0,29	0,07	
Bardana Arctium lappa BA03											< LOQ											0,15	0,119	
Camellia sinensis TV03								< LOQ						0,040			0,049	0,750						
Hypericum perforatum IP01								< LOQ						0,041										
Illicium verum AS01								< LOQ																
Illicium verum AS02								< LOQ																
Illicium verum AS03								< LOQ						< LOQ										
Laurus nobilis LA01																								0,24
Passiflora caerulea PF02						< LOQ									< LOQ									
Pimpinella anisum AN01					< LOQ																			
Pimpinella anisum AN02				0,025																	< LOQ			
Taraxacum officinale TA01																						0,15		
Taraxacum officinale TA02	0,025	0,470	0,500	0,224											< LOQ				1,03	0,44				
Taraxacum officinale TA03															< LOQ	0,020						0,32		

> MRL

LOQ < X < MRL

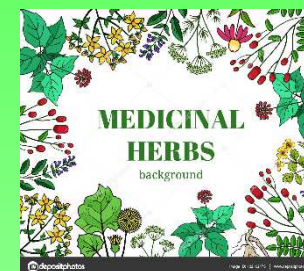
< LOQ

> MRL

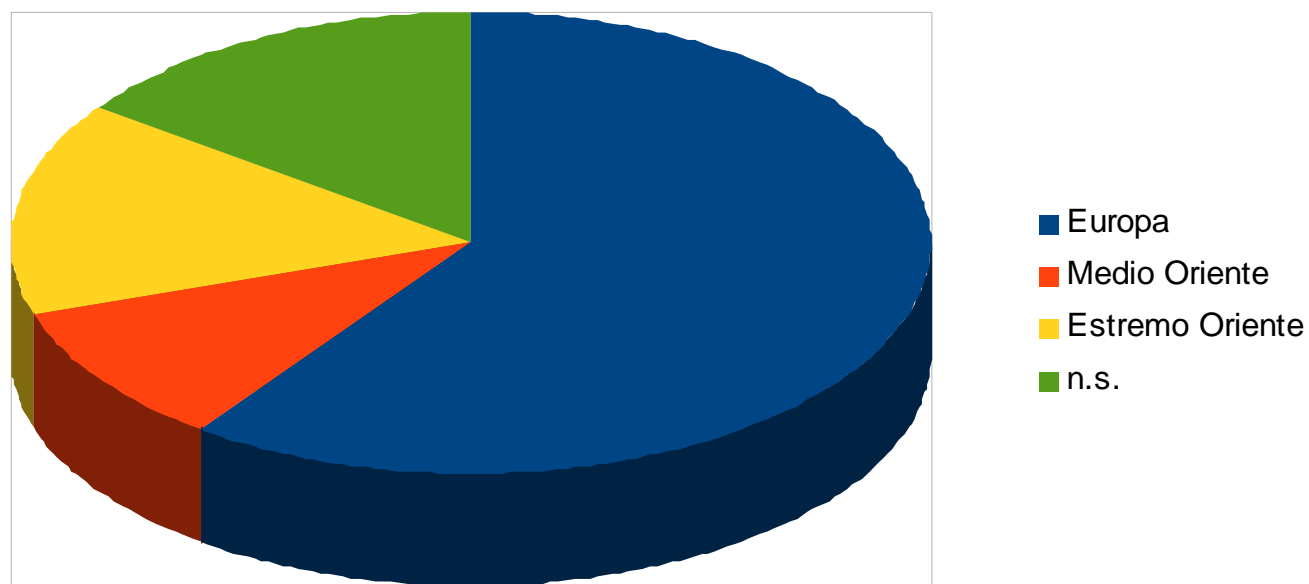
LOQ < X < MRL

< LOQ

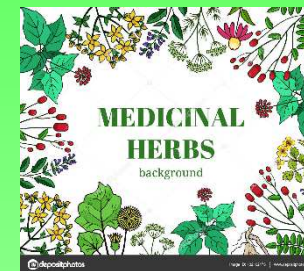
## PESTICIDI - RISULTATI



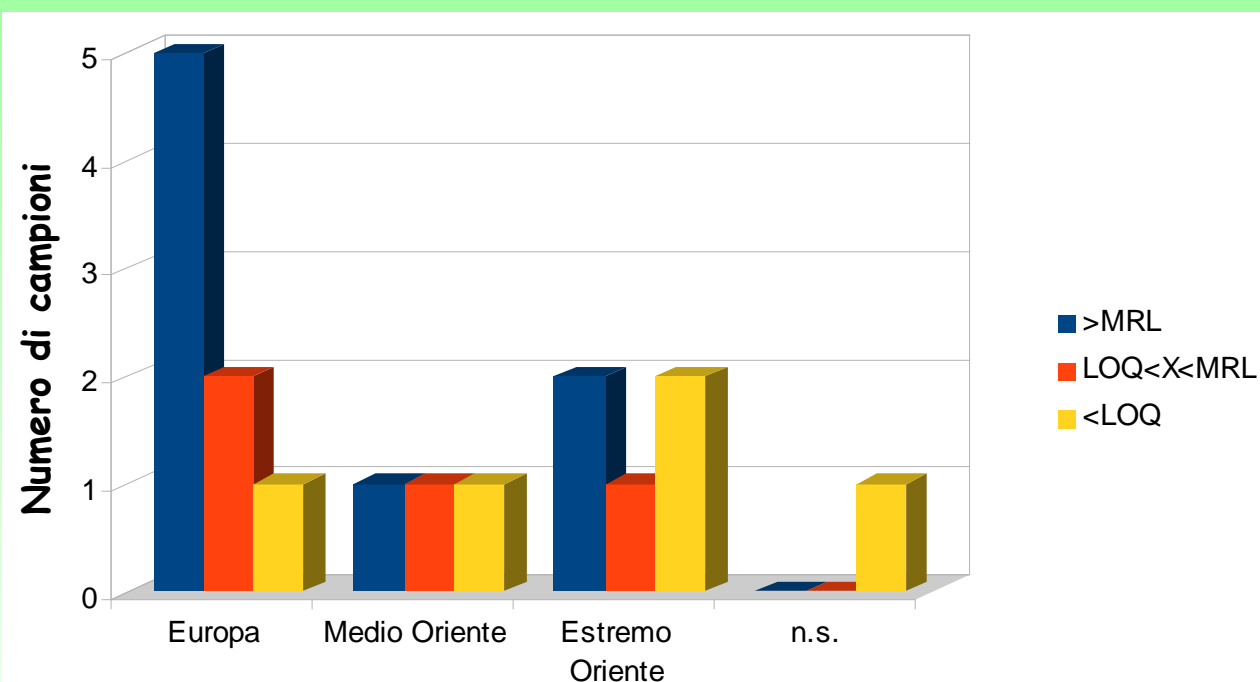
In Figura è riportato un grafico a torta con le indicazioni riguardo la provenienza dei campioni analizzati



## PESTICIDI - RISULTATI

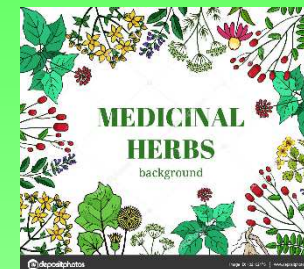


L'istogramma rappresenta la distribuzione dei campioni con presenza di pesticidi in relazione alla zona di produzione. La totalità dei campioni con presenza di pesticidi superiore al limite di legge proviene da paesi della comunità Europea di cui il 77% sono prodotti di coltivazione ed il restante deriva da crescita spontanea.



Katia Russo e Dario Lucchetti - IZSLT Roma - 20 Giugno 2017

## Conclusioni I

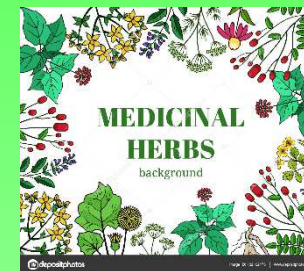


-Non è stato rilevato alcun campione sottoposto ad irraggiamento ed i livelli dei metalli pesanti, se pur significativamente superiori ai valori di LOQ, sono comunque tutti ben al di sotto dei limiti di legge previsti per queste matrici

-I valori di alcuni Pesticidi riscontrati in diverse matrici analizzate (Altea, Bardana, Laurus, Tarassaco) sono stati anche superiori a **tre volte** i limiti di legge, arrivando in alcuni casi anche a **dieci volte** il relativo limite di legge (es.: Fention-sulfone in Bardana 0.75 mg/Kg con un limite di legge di 0.070 mg/Kg).

-Contrariamente ad ogni aspettativa, la maggior parte dei campioni da considerarsi non regolamentari, ovvero con livelli di pesticidi superiori ai rispettivi limiti di legge, provengono da paesi dell'**Unione Europea**, soprattutto quelli con i valori più elevati.

-Per l'83% dei campioni totali, i valori delle **Aflatossine** e dell'**Ocratossina A** sono risultati inferiori al limite di quantificazione (< LOQ). Mentre sono 8 i campioni con una presenza di micotossine superiore al limite di quantificazione corrispondenti al 17% dei campioni analizzati. Di questi solo un campione (di Bardana) presenta una quantità di Ocratossina A ben al di sopra dei limiti massimi previsti per questo tipo di matrici.



## Conclusioni II

-I campioni per i quali è stata rivelata una presenza al di sopra del nostro limite di quantificazione provengono per lo più da paesi appartenenti all'**Unione Europea** e da paesi del **Medio Oriente**. Il campione con presenza di Ocratossina A al di sopra del limite di legge proviene, invece, dall'**Estremo Oriente**.

1)IL NUMERO E LA VARIETÀ DI PESTICIDI E MICOTOSSINE NEI CAMPIONI DI ERBE OFFICINALI DA INFUSIONE ANALIZZATI HA SOLLEVATO UN PROBLEMA RELATIVO ALLA **MANCANZA DI UN MONITORAGGIO** INTENSIVO SU QUESTO TIPO DI MATRICI.

2)INOLTRE SAREBBE INTERESSANTE VALUTARE I LIVELLI DI CONTAMINAZIONE DI TALE SOSTANZE NEI **PRODOTTI TRASFORMATI**, COME PER ESEMPIO, GLI ESTRATTI IDROALCOLICI, LE TISANE E INTEGRATORI ALIMENTARI DI ORIGINE VEGETALE.



# GRAZIE PER L'ATTENZIONE



Katia Russo e Dario Lucchetti - IZSLT Roma - 20 Giugno 2017