



INDUSTRIA
DERIVATI
NATURALI

Adulterazioni: il punto di vista di un produttore di estratti vegetali per integratori alimentari

ESTRATTI VEGETALI ED ADULTERAZIONE



L'ADULTERAZIONE PUÒ ESSERE **ACCIDENTALE O INTENZIONALE**
IN ENTRAMBI I CASI SPESSO HA A CHE FARE CON IL MATERIALE VEGETALE IMPIEGATO

IL PRODUTTORE DI ESTRATTI VEGETALI DEVE:

TUTELARE LA QUALITÀ DELLA PROPRIA PRODUZIONE RISPETTO A RISCHI DI ADULTERAZIONE
O FRAMMISCHIAMENTO DEL MATERIALE VEGETALE D'ACQUISTO

DIFENDERE LA QUALITÀ DEL PROPRIO PRODOTTO SUL MERCATO RISPETTO A PRODOTTI DI
QUALITÀ INFERIORE E/O ADULTERATI

DIFENDERE LA QUALITÀ DEL PROPRIO PRODOTTO SUL MERCATO RISPETTO A PRODOTTI
DICHARATI EQUIVALENTI MA INTRINSECAMENTE DIVERSI

PER FARLO:

DEVE SVILUPPARE, E METTERE A DISPOSIZIONE, ADEGUATI APPROCCI ANALITICI E DI
QUALITÀ

N.B. IN CERTI CASI L'ADULTERAZIONE PUÒ ESSERE MOLTO DIFFICILE DA RILEVARE

ESTRATTI VEGETALI PER INTEGRATORI ALIMENTARI



SONO COSTITUITI DA MISCELE COMPLESSE MULTICOMPONENTI
(LA CUI COMPOSIZIONE SOLITAMENTE NON È COMPLETAMENTE NOTA)

VENGONO CONSIDERATI ESSERE EFFICACI NELLA LORO INTEREZZA

- BENCHÉ IL LORO EFFETTO FISILOGICO VENGA CORRELATO ALLA PRESENZA DI ALCUNE SPECIFICHE SOSTANZE, TALE EFFETTO È LA RISULTANTE DI UN CONTRIBUTO SINERGICO DI TUTTI I COSTITUENTI LA MATRICE
- LE MEDESIME SPECIFICHE SOSTANZE, UN VOLTA ISOLATE, GENERALMENTE RISULTANO MENO EFFICACI (O COMUNQUE NON PIÙ EFFICACI DELL'ESTRATTO).

EFFICACIA (E SICUREZZA) ↔ MATRICE

ESTRATTI VEGETALI PER INTEGRATORI ALIMENTARI



LA **COMPOSIZIONE** DELL' ESTRATTO E LA SUA **RIPRODUCIBILITÀ** DIPENDONO
DA:

- QUALITÀ DEL MATERIALE VEGETALE DI PARTENZA (SPECIE BOTANICA, ORIGINE, COLTIVAZIONE, TRATTAMENTI POST RACCOLTA E CONTROLLO DI TUTTA LA FILIERA)
- IL PROCESSO DI PRODUZIONE DELL' ESTRATTO (SOLVENTI E TECNOLOGIA, ROBUSTEZZA DEL PROCESSO)
- CONTROLLO DI QUALITÀ DELL'ESTRATTO FINALE BASATO SU PARAMETRI ADEGUATI (**CERTIFICA** LA QUALITÀ GARANTITA DAI PASSAGGI PRECEDENTI)

MIRTILLO NERO FRUTTI



GENUS	SPECIE	AUTORE	PARTE DELLA PIANTA
Vaccinium	myrtilus	L.	FRUTTO FRESCO (CONGELATO)

- NON PUÒ ESSERE COLTIVATO (RACCOLTA DALLO SPONTANEO)
- DIFFICILE DA RACCOGLIERE (RACCOLTA NON MECCANIZZABILE)
- SOGGETTO A RAPIDA DEGRADAZIONE (RICHIEDE CATENA DEL GELO IN TUTTE LE FASI)
- CRESCE ABBONDANTE IN AREE GEOGRAFICHE RELATIVAMENTE RISTRETTE (NORD EUROPA)
- RESE DI PRODUZIONE DELL'ESTRATTO SECCO MOLTO BASSE (FRUTTO → ESTRATTO 1%)

È TRA LE PIÙ COSTOSE MATERIE PRIME VEGETALI
E' MOLTO PIÙ COSTOSO DELLE ALTRE SPECIE DI VACCINIUM
EFFETTI BENEFICI CONSOLIDATI NELL'USO TRADIZIONALE, CONFERMATI DA STUDI CLINICI

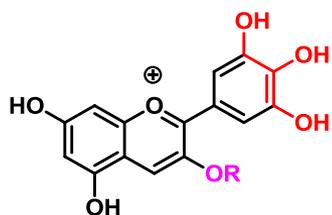


FORTE MOTIVAZIONE ECONOMICA PER L'ADULTERAZIONE

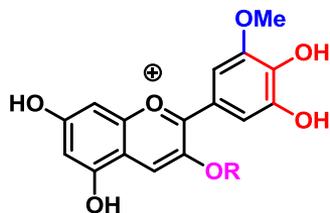
MIRTILLO NERO FRUTTI



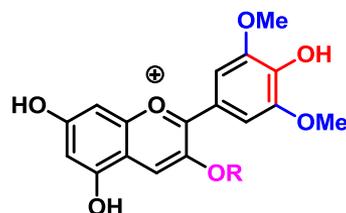
I METABOLITI SECONDARI CARATTERISTICI SONO LE ANTOCIANINE
CAUSA DEL COLORE ROSSO CARATTERISTICO DEL FRUTTO E DEL SUCCO
E AD ESSE SONO ATTRIBUITI GLI EFFETTI BENEFICI DEL FRUTTO



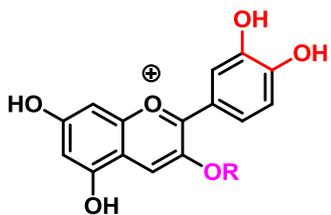
DELPHINIDIN



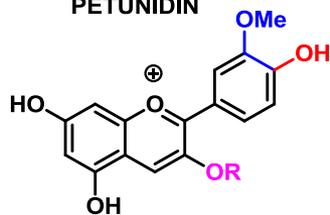
PETUNIDIN



MALVIDIN

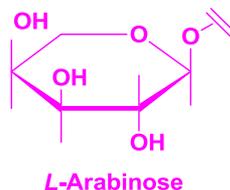
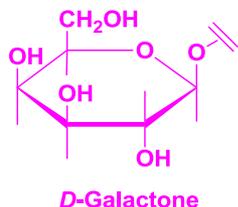
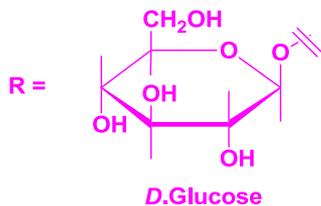


CYANIDIN



PEONIDIN

15 ANTOCIANINE ESTREMAMENTE SPECIFICHE DELLA SPECIE
CONTENUTO NEL FRUTTO PARI A CIRCA 0.3-0.5%



MIRTILLO NERO FRUTTI – CONTROLLO DI QUALITÀ



PREREQUISITO PER UN CONTROLLO DI QUALITÀ AFFIDABILE: PROCEDURE DI CAMPIONAMENTO ADEGUATE

DIMENSIONE LOTTO ES 20 TONS

PRELIEVI DA TUTTI I SINGOLI CONTENITORI

ALLESTIMENTO DEL CAMPIONE RAPPRESENTATIVO (DECINE DI KG)

QUARTAZIONE DELLO STESSO (CAMPIONE FINALE 1 KG)

INVIO AL LABORATORIO

IL TUTTO GESTITO A -20C°

N.B. FLUSSO DI MATERIALE: 2000-3000 TONNELLATE/ANNO



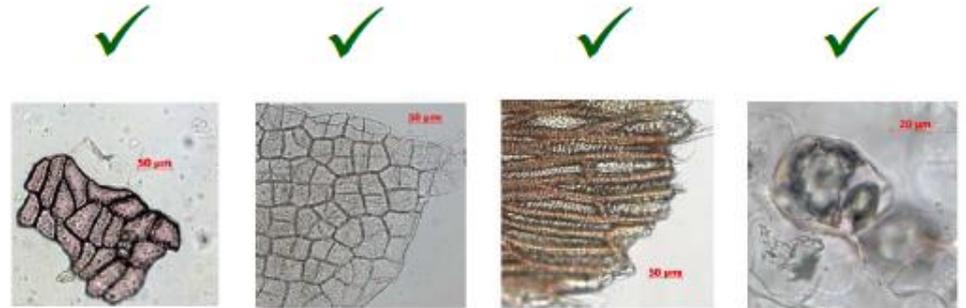
MIRTILLO NERO FRUTTI – CONTROLLI BOTANICI (PH. EUR. E INDENA)



IDENTIFICAZIONE MACROSCOPICA



IDENTIFICAZIONE MICROSCOPICA



COSÌ SPECIFICA DA NON RICHIEDERE CONFERME VIA INDAGINI GENOMICHE

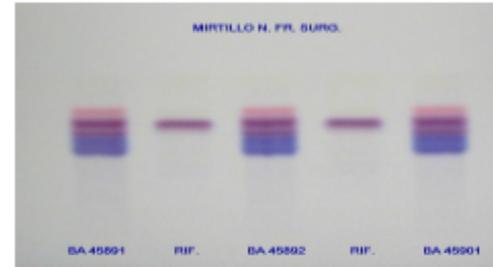
MIRTILLO NERO FRUTTI CONTROLLI CHIMICI (PH. EUR. E INDENA)



IDENTIFICAZIONE TLC (SPECIFICA)

+

TITOLO UV/VIS (ASPECIFICO)

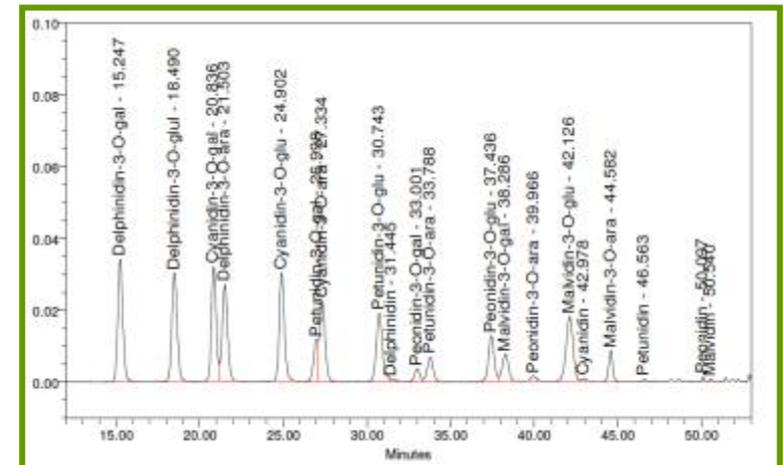


ANDANDO OLTRE IL “CAPITOLATO”:

UN PATTERN HPLC ESTREMAMENTE SPECIFICO DELLA SPECIE

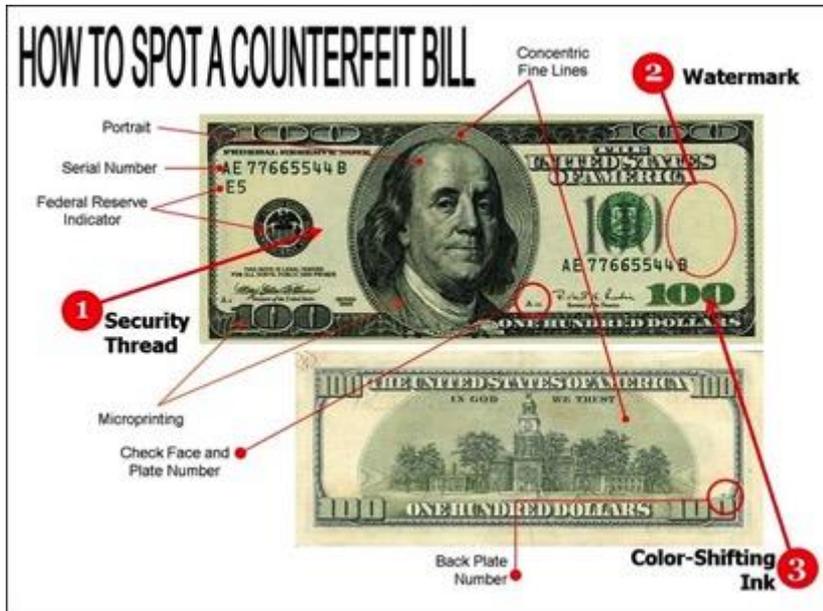
TITOLO E IDENTIFICAZIONE HPLC
(CONVALIDATO- CAPACE DI RIVELARE:

- 15 ANTOCIANINE
- 5 PRODOTTI DI DEGRADAZIONE)

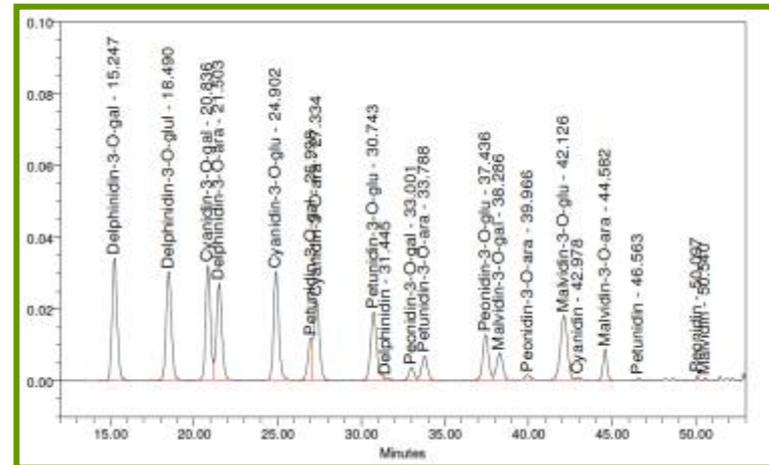


METODO HPLC ADOTTATO DALLA PH EUR PER LA MONOGRAFIA DELL' ESTRATTO

IL PROFILO HPLC DEL MIRTILLO NERO FRUTTI DEVE ESSERE MANTENUTO IN UN ESTRATTO DI BUONA QUALITÀ!



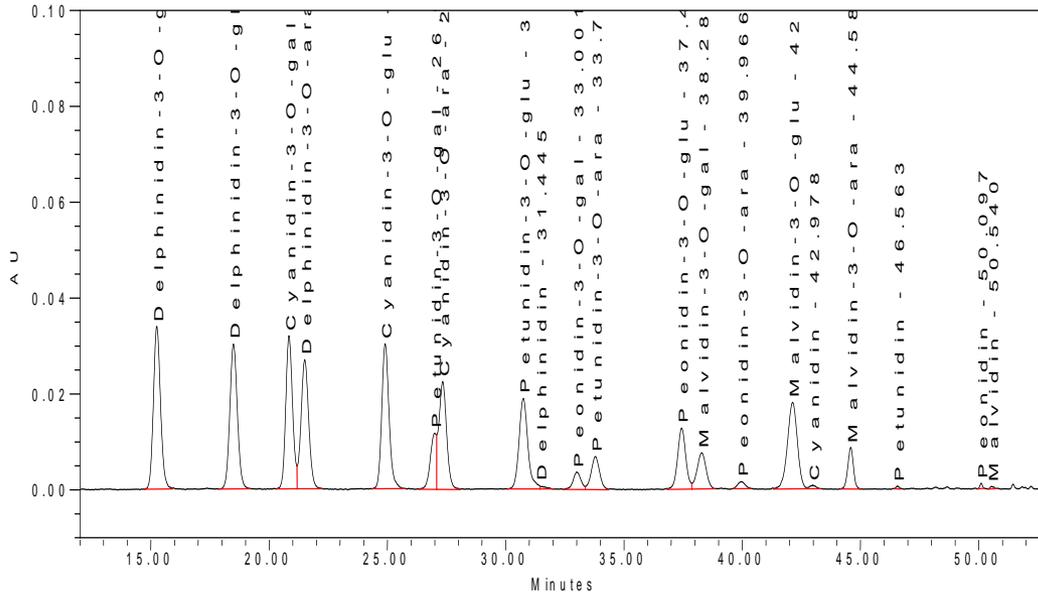
VACCINIUM MYRTILLUS EXTRACT



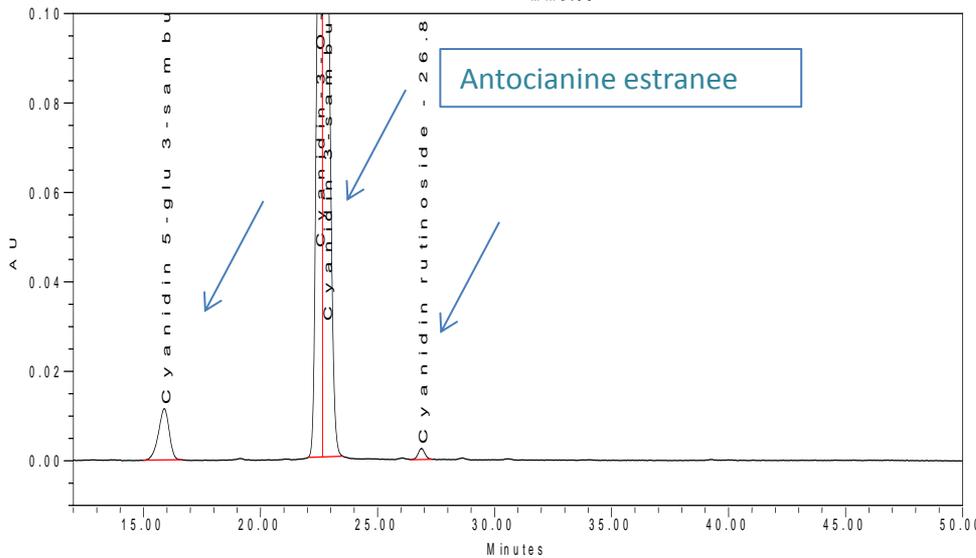
- Presenza di picchi estranei, e/o alterazione dei rapporti tra i picchi, sono indicatori di adulterazione.
- Presenza di markers di degradazione sintomo di cattiva produzione/conservazione.

PASSO SUCCESSIVO: CARATTERIZZARE IL PROFILO HPLC DELLE ALTRE SPECIE →

ANCHE LE ALTRE SPECIE DI FRUTTI ROSSI HANNO UN PROFILO HPLC SPECIFICO

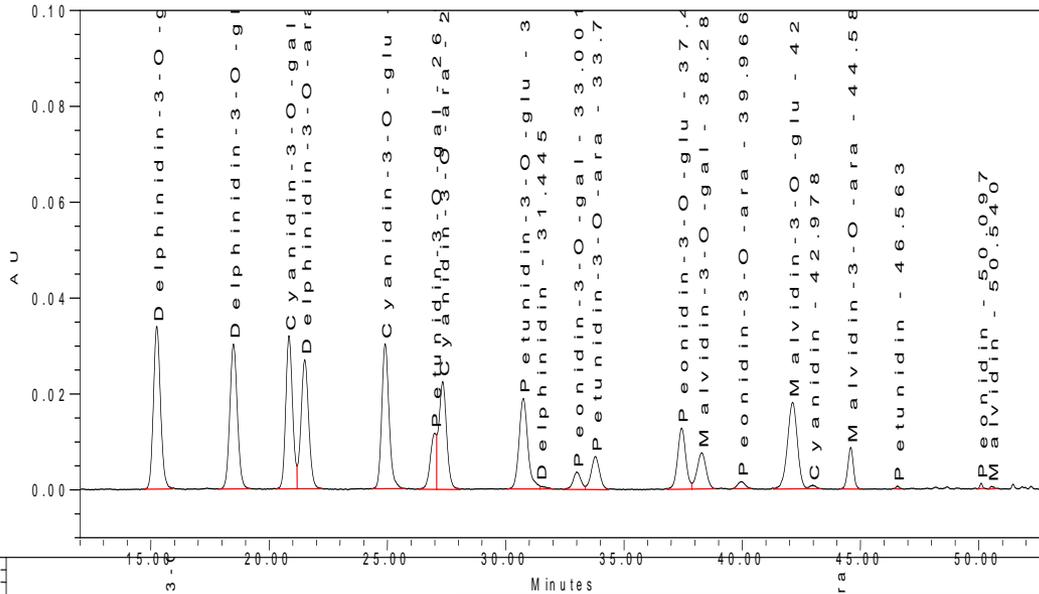


VACCINIUM MYRTILLUS

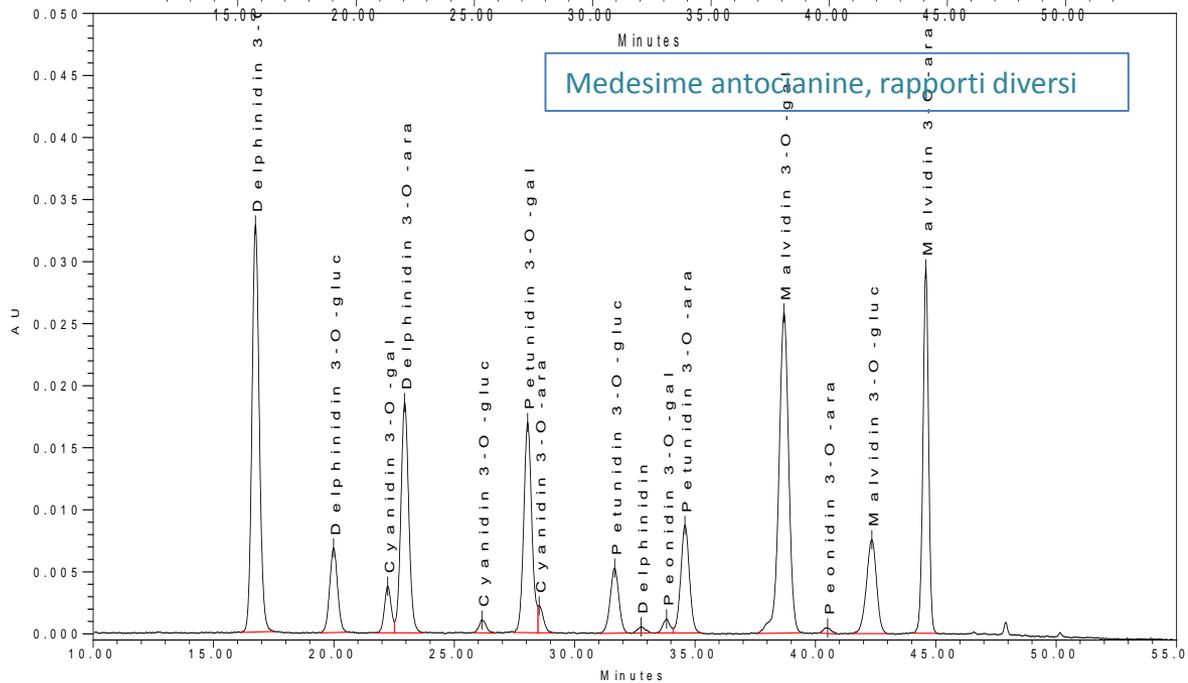


SAMBUCUS NIGRA

ANCHE LE ALTRE SPECIE DI FRUTTI ROSSI HANNO UN PROFILO HPLC SPECIFICO



VACCINIUM MYRTILLUS



VACCINIUM CORYMBOSUM
(MIRTILLO GIGANTE AMERICANO)

UNA PRIMA INDAGINE SVOLTA DA INDENA SUGLI INTEGRATORI PRESENTI SUL MERCATO

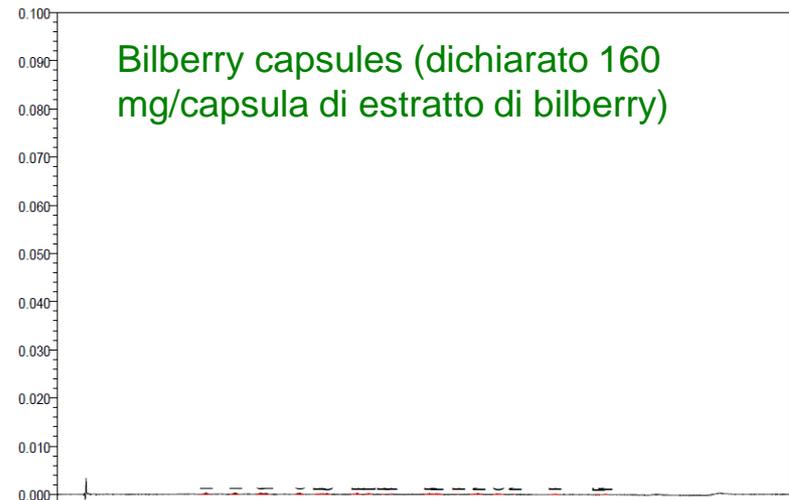
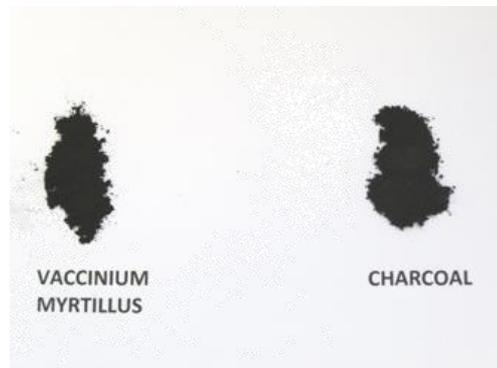


CASSINESE ET AL.: JOURNAL OF AOAC INTERNATIONAL VOL . 90, NO 4, 2007

40 CAMPIONI DA 24 BRAND DI INTEGRATORI ALIMENTARI PRESENTI SUI MERCATI DI:
EUROPA, STATI UNITI, GIAPPONE

RISULTATI:

- SOLO IL 15% DEI CAMPIONI ERANO COERENTI, PER SPECIE E QUANTITÀ, A QUANTO DICHIARATO
- 25% DEI CAMPIONI AVEVANO PROFILO HPLC NON CONFORME ALL'ESTRATTO DI MIRTILLO NERO
- IN 4 CASI IL CONTENUTO DI ANTOCIANINE È RISULTATO PARI A ZERO...CARBONE VEGETALE COME ADULTERANTE?



SITUAZIONE ANALOGA NEL MONITORAGGIO FATTO NEGLI ANNI SUCCESSIVI

ANDANDO OLTRE I CASI DI ADULTERAZIONE PIÙ SEMPLICI ...

PER CAPIRE COSA È «FALSO» OCCORRE INVESTIGARE A FONDO LE CARATTERISTICHE DI CIÒ CHE È «VERO»

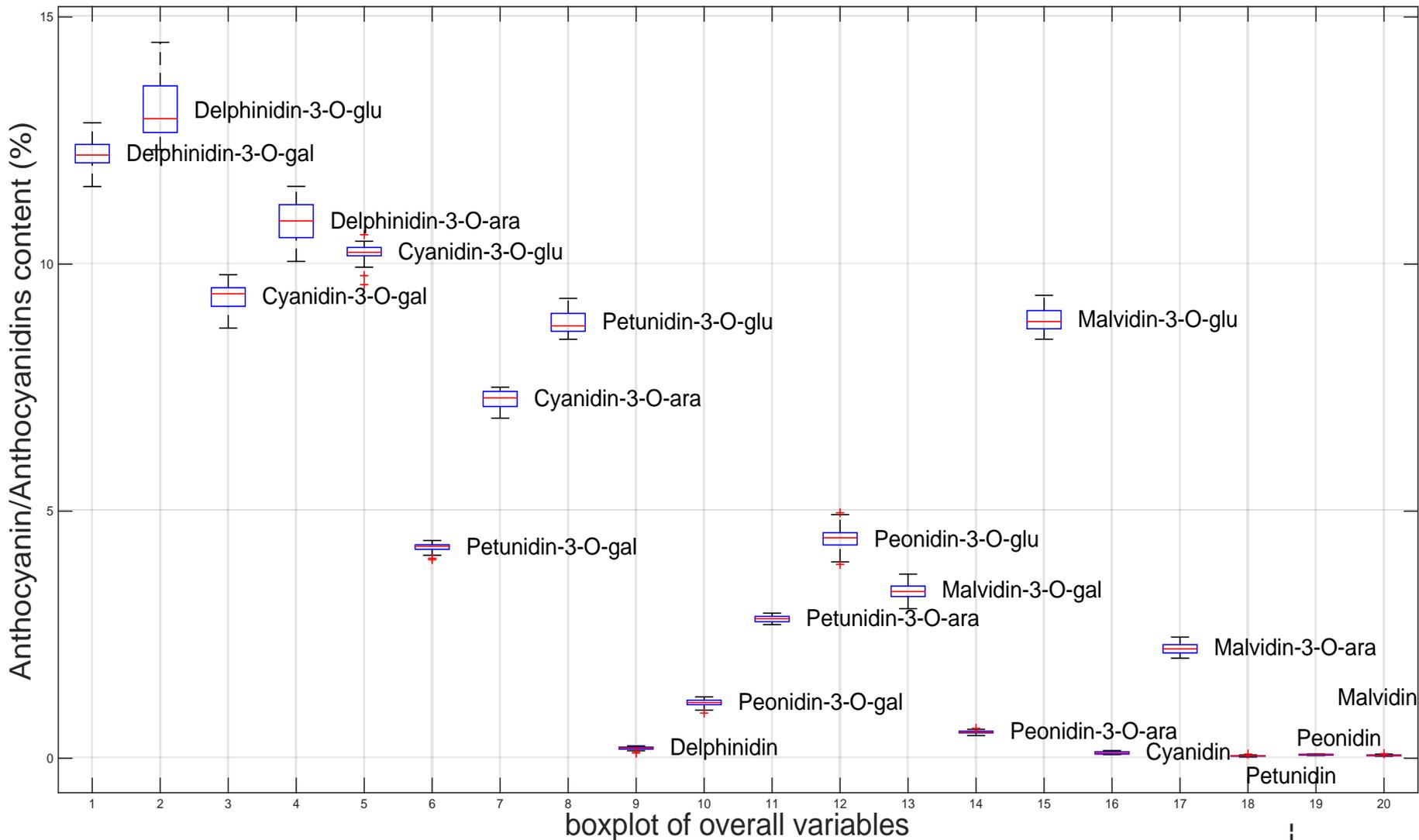


COME COSTRUIRE QUESTA VISIONE APPROFONDATA DEL PRODOTTO?

- STIMARE LA VARIABILITÀ NATURALE INDOTTA DALLA MATERIA PRIMA
- STIMARE LA VARIABILITÀ INTRINSECA DEL NOSTRO PROCESSO
- INVESTIGARE EVENTUALI DERIVE (NATURALI O DI PROCESSO)
- ANDARE OLTRE LA COMPARAZIONE UNIVARIATA
- ANDARE OLTRE L'INDAGINE DEI MARKERS "CLASSICI" INVESTIGANDO SIA LA MATRICE NEL SUO INSIEME CHE CERCANDO MARKERS ANCHE IN TRACCE MA SPECIFICI
- BASARSI SU UN APPROCCIO ANALITICO MULTITECNICA
- IMPIEGARE STRUMENTI STATISTICI PER L'ANALISI DATI

UN PRIMO PASSO IN QUESTA DIREZIONE: SFRUTTARE PIÙ A FONDO I DATI HPLC GIÀ DISPONIBILI →

UN PRIMO PASSO: VARIABILITÀ LOTTO-LOTTO MEDIANTE BOX-PLOT ANALYSIS DEI DATI HPLC (RAPPRESENTAZIONE DI 30 LOTTI INDUSTRIALI DI ESTRATTO X 20 COSTITUENTI)





5.21. CHEMOMETRIC METHODS APPLIED TO ANALYTICAL DATA

The following chapter is published for information only. It is an introduction to the use of chemometric techniques for processing analytical data sets. The objective is to provide indications on good chemometric practice and requirements.

04/2016:52100

1. GENERAL ASPECTS

1-1. INTRODUCTION

1-1-1. Scope of the chapter

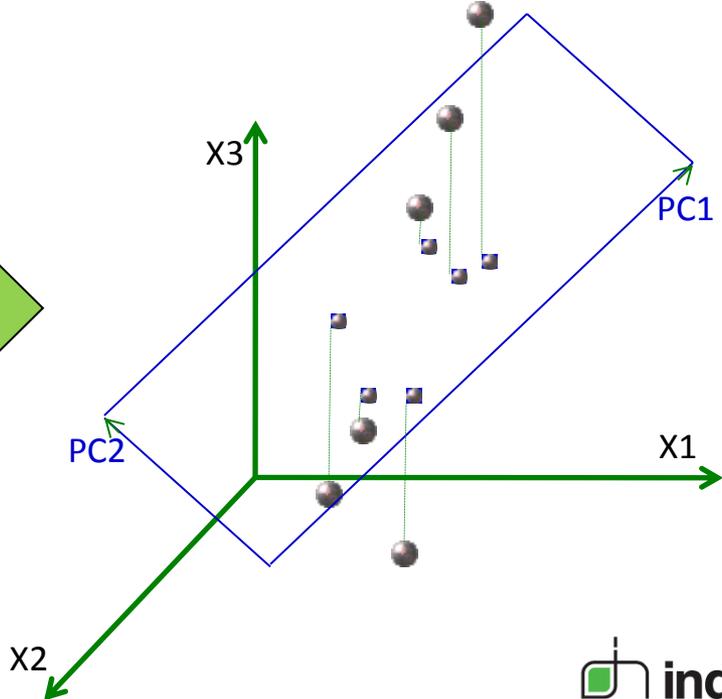
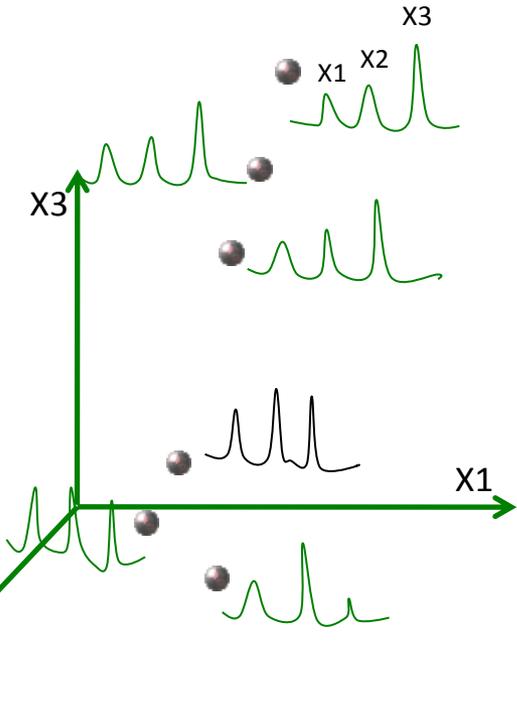
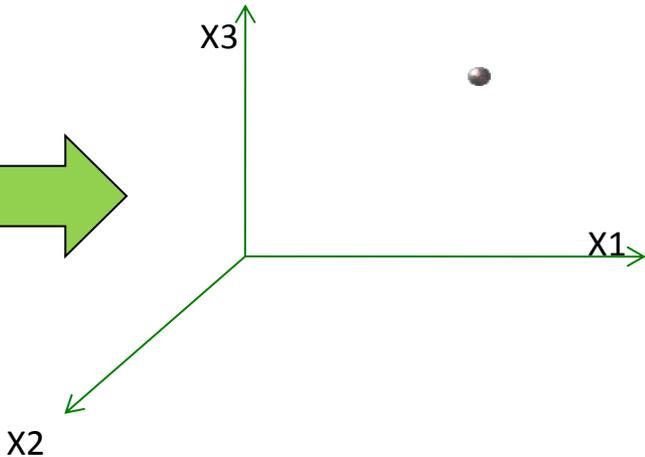
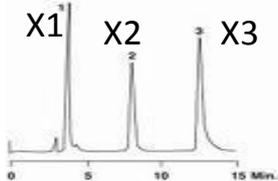
This chapter is an introduction to the use of chemometric techniques for the processing of analytical data sets, which is an area of interest for research, quality control and manufacturing in the pharmaceutical industry. The objective is to provide information on the requirements for good chemometric practice and to also present a selection of established chemometric methods, but not an exhaustive review of these techniques, as refinements and innovations are constantly being introduced. The principles of the proposed methods will be briefly described along with their critical aspects and limitations. Mathematical details and algorithms are mostly omitted and a glossary is provided at the end of the chapter.

Algorithms are applied directly to the data set, and information of interest is extracted with models (modelling or calibration step). Chemometrics is associated with multivariate data analysis, which usually depends less on assumptions about the distribution of the data than many other statistical methods since it rarely involves hypothesis testing. During modelling the most sensitive changes in properties of interest can be amplified, while the less relevant changes in disturbing factors, whatever their origin, i.e. physical, chemical, experimental or instrumental variation, are minimised to the level of noise.

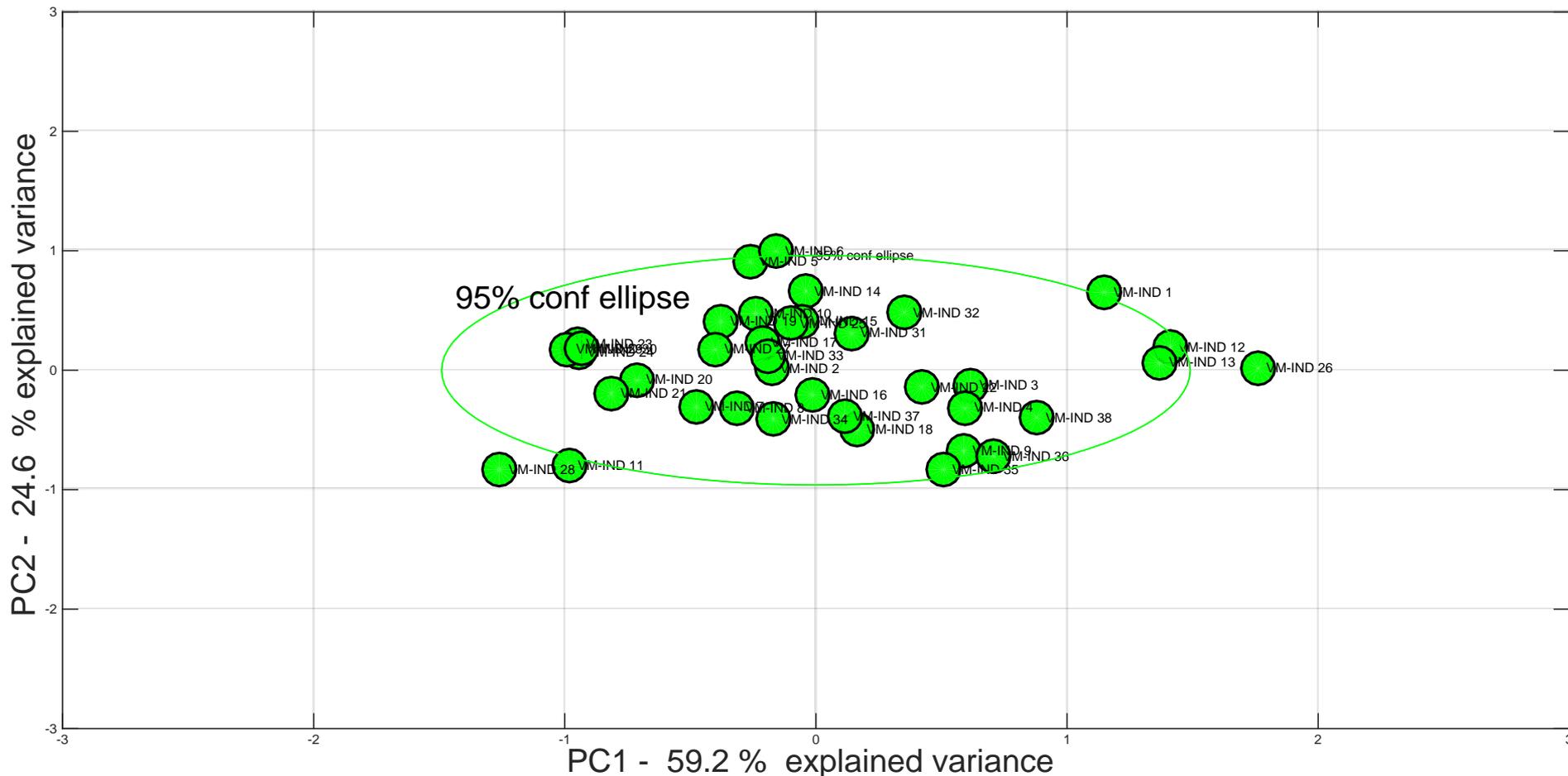
A model in chemometrics is a prediction method and not a formal or simplified representation of a phenomenon from physics, chemistry, etc. The ability of a model to predict properties has to be assessed with regard to its performance. The best model or calibration will provide the best estimations of properties of interest. A useful model is one that can be trusted and used for decision-making, for example. Adoption of a model in decision-making must be based on acceptable, reliable, and well-understood assessment procedures.

In univariate analysis, identified variables in a system are analysed individually. However, in reality, systems tend to be more complex, where interactions and combination effects occur between sample variables and cannot be separated. Multivariate data analysis handles many variables simultaneously and the relationship within or between data sets (typically matrices) has to be rearranged to reveal the relevant information. In multivariate methods, the original

ANALISI DELLE COMPONENTI PRINCIPALI (PCA) IN DUE PAROLE

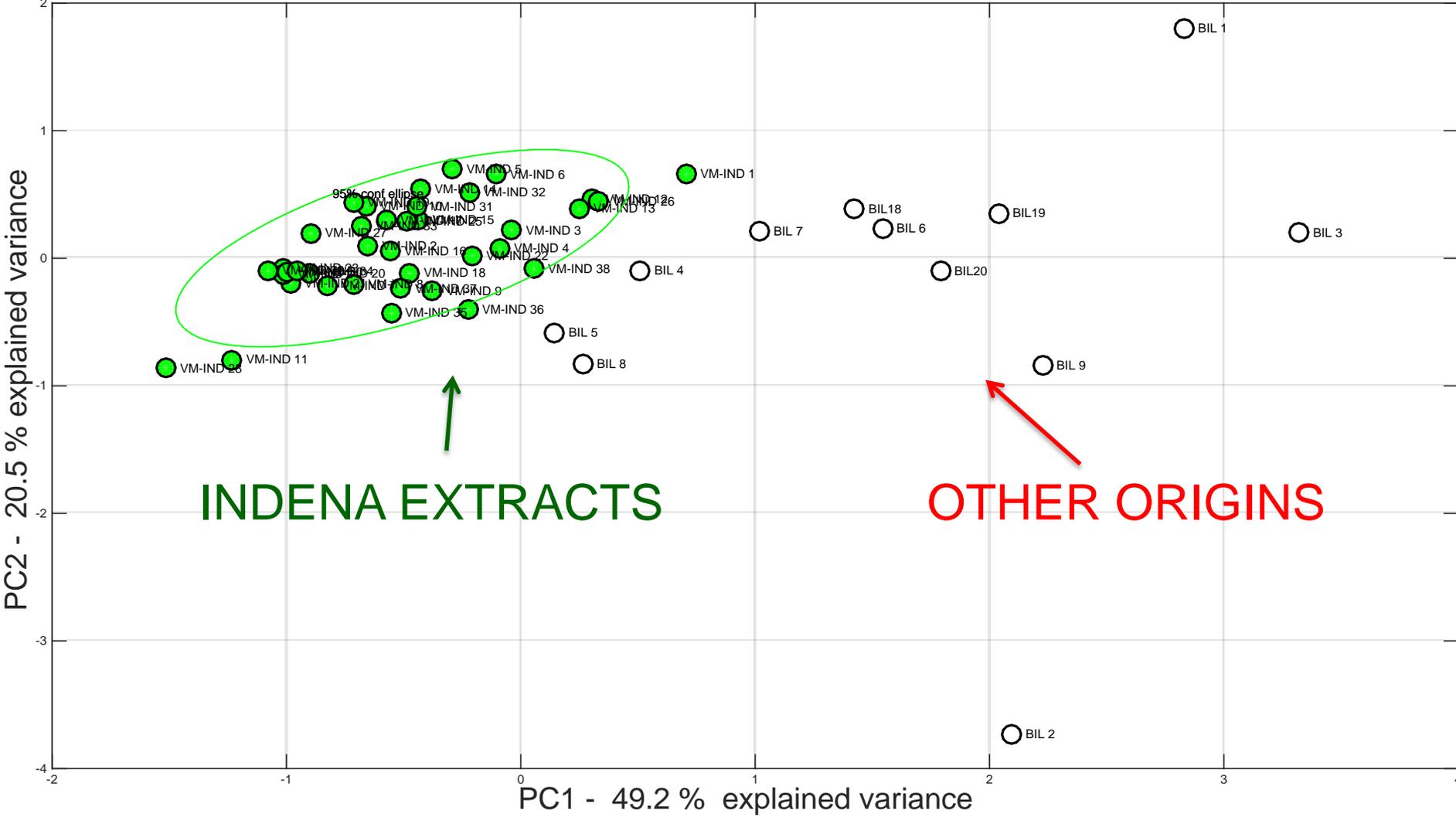


RAPPRESENTAZIONE PCA DEI DATI HPLC DI ANTOCIANINE PER 30 LOTTI DI ESTRATTO DI MIRTILLO NERO



2 COMPONENTI PRINCIPALI RENDONO CONTO DELLA MAGGIOR PARTE DELLA VARIABILITÀ DEL SISTEMA (DA 20 VARIABILI A 2)

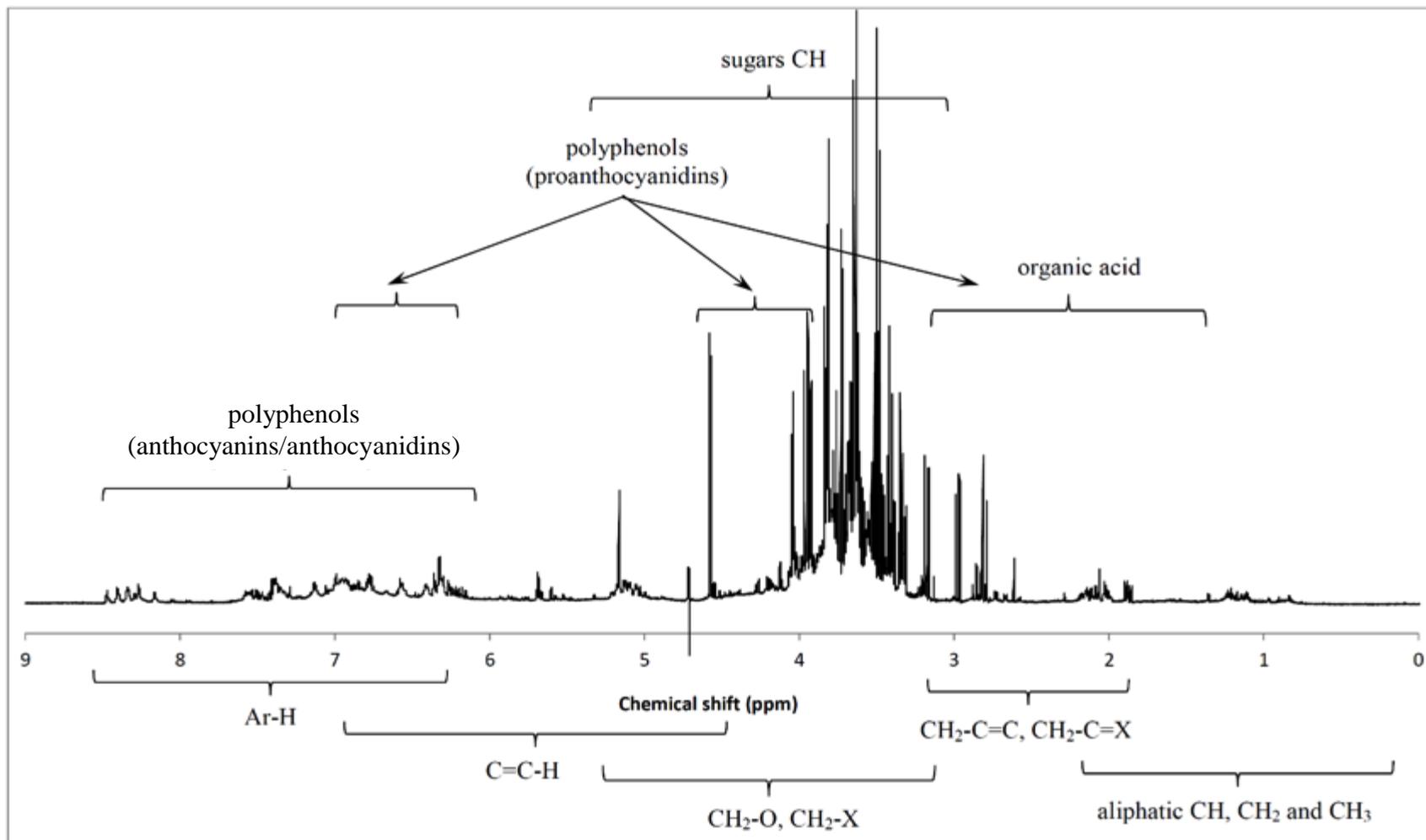
UN CONFRONTO CON LA CONCORRENZA...A PARITÀ DI CAPITOLATO



CARATTERIZZARE L'INTERA MATRICE MEDIANTE NMR:

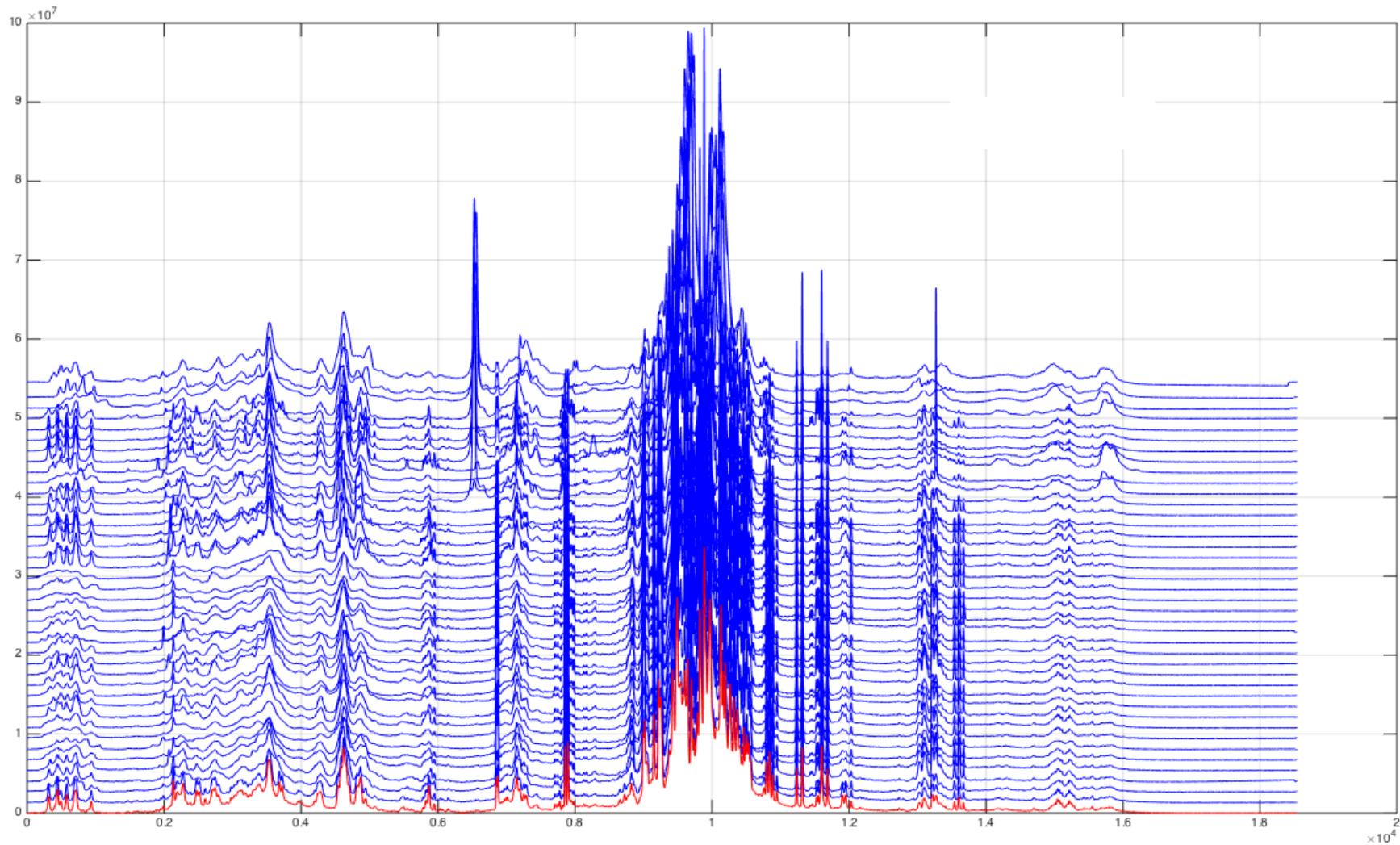


TYPICAL ^1H -NMR SPECTRA OF VACCINIUM MYRTILLUS DRY EXTRACT

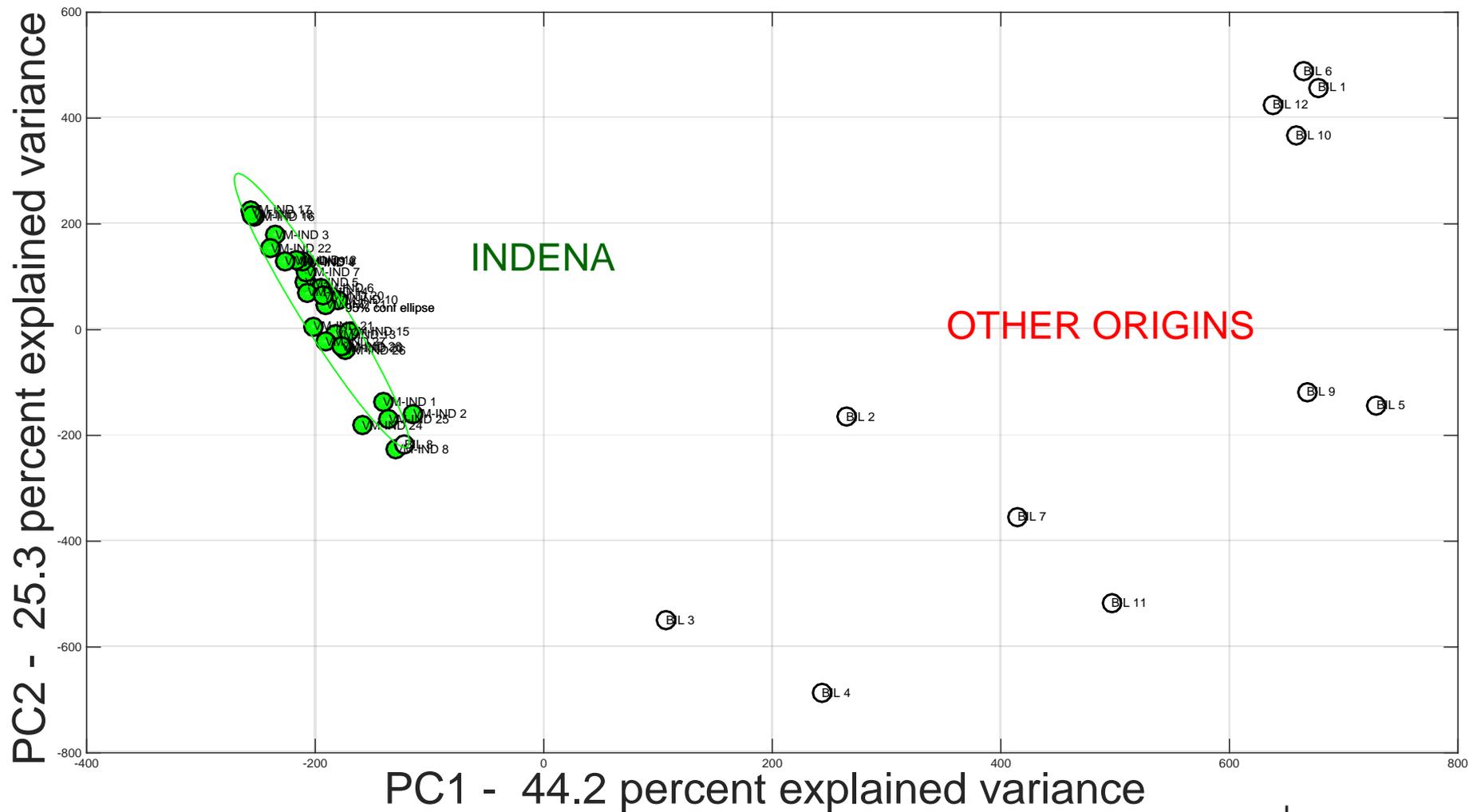


..E RAPPRESENTARNE LA VARIABILITÀ LOTTO-LOTTO:

MATRICE DI DATI ENORME, INDISPENSABILE L'ANALISI STATISTICA MULTIVARIATA



LA STESSA MATRICE DI DATI NMR E RAPPRESENTATA IN PCA



ANALISI DELLE COMPONENTI PRINCIPALI: NON SOLO UNA RAPPRESENTAZIONE MA UNA CONOSCENZA INTIMA



- SI TRATTA DI UNA RAPPRESENTAZIONE OGGETTIVA DEI DATI
- ABBIAMO RIDOTTO LA DIMENSIONALITÀ, MA SENZA PERDERE L'INFORMAZIONE
- LE RAGIONI (CHIMICHE, SPETTRALI), DELLA VICINANZA O SEPARAZIONE TRA DUE CAMPIONI POSSONO ESSERE RICOSTRUITE INTERMINI DELLE COMPONENTI ORIGINARIE
- ABBIAMO ESALTATO DIFFERENZE E SIMILITUDINI CHE DEVONO ESSERE INTERPRETARE CRITICAMENTE DA UN PUNTO DI VISTA METODOLOGICO PORTANDO AD UN AFFINAMENTO DELL'ELABORAZIONE

The presented data are part of the publication authored by Indena:

Can Herbal Extracts be Essentially Similar? A Metabolomic investigation of Vaccinium myrtillus (Bilberry) Dry Extracts.
[E. de Combarieu](#), [E. M. Martinelli](#), [R. Pace](#), [N. Sardone](#).

As a chapter of the book:

Occurrences, Structure, Biosynthesis, and Health Benefits Based on Their Evidences of Medicinal Phytochemicals in Vegetables and Fruits.

Volume 5 (Sept. 2016) Publisher: Nova Science Publishers.

Editor: Prof. Noboru Motohashi

CONCLUSIONI



L'ADULTERAZIONE, **ACCIDENTALE O INTENZIONALE**, SPESSO HA A CHE FARE CON IL MATERIALE VEGETALE IMPIEGATO E IN MOLTI CASI È DIFFICILE DA RILEVARE

IL PRODUTTORE DI ESTRATTI VEGETALI DEVE:

TUTELARE LA QUALITÀ DELLA PROPRIA PRODUZIONE RISPETTO A RISCHI DI ADULTERAZIONE O FRAMMISCHIAMENTO DEL MATERIALE VEGETALE D'ACQUISTO MEDIANTE UNA FILIERA DI FORNITURA QUALIFICATA E CONTROLLATA

DIFENDERE LA QUALITÀ DEL PROPRIO PRODOTTO SUL MERCATO RISPETTO A PRODOTTI DI QUALITÀ INFERIORE E/O ADULTERATI DIMOSTRANDO IN MODO APPROPRIATO LA PROPRIA GENUINITÀ E RIPRODUCIBILITÀ

DIFENDERE LA QUALITÀ DEL PROPRIO PRODOTTO SUL MERCATO RISPETTO A PRODOTTI DICHIARATI EQUIVALENTI MA INTRINSECAMENTE DIVERSI, MEDIANTE UNA CONOSCENZA ESAUSTIVA DEL PROPRIO PRODOTTO E DELLA SUA VARIABILITÀ

PER FARLO:

DEVE SVILUPPARE, **E METTERE A DISPOSIZIONE**, ADEGUATI APPROCCI DI QUALITÀ E ANALITICI DI COMPLESSITÀ CRESCENTE CHE VADANO OLTRE IL CONTROLLO DI QUALITÀ TRADIZIONALE





GRAZIE PER L'ATTENZIONE!