



## Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi

<https://dergipark.org.tr/tr/pub/yyufbed>



Derleme Makalesi

### Farklı Gıda Gruplarında Pirolizidin Alkaloidlerin Varlığı ve Yasal Regülasyonların İncelenmesi

Hazal GÜL\*, Emine NAKİLCİOĞLU, Semih ÖTLEŞ

Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, 35040, İzmir, Türkiye  
Hazal GÜL, ORCID No: 0000-0001-6833-6668, Emine NAKİLCİOĞLU, ORCID No: 0000-0003-4334-2900,  
Semih ÖTLEŞ, ORCID No: 0000-0003-4571-8764

\*Sorumlu yazar e-posta: hazal.sarali@hotmail.com

#### Makale Bilgileri

Geliş: 09.10.2023  
Kabul: 18.01.2024  
Online Nisan 2024

DOI: [10.53433/yyufbed.1373577](https://doi.org/10.53433/yyufbed.1373577)

#### Anahtar Kelimeler

Gıda,  
Pirolizidin alkaloid,  
Pirolizidin alkaloid N-oksit,  
Regülasyon

**Öz:** Son yıllarda yapılan çalışmalarda, birçok gıda ürünlerinde yüksek düzeyde pirolizidin alkaloidleri (PA) tespit edilmiş ve bunların gıda güvenliği açısından endişe verici bir sorun olduğu vurgulanmıştır. Bugüne kadar farklı gıda matrislerinde PA'ların oluşumuna ilişkin verilerin toplanmasının yanı sıra bu bileşiklerin düşük konsantrasyon seviyelerinin belirlenmesini sağlayan hassas analitik yöntemler geliştirilmiştir. PA'lar ve bunların N-oksitleri (PANO), ağırlıklı olarak bitkisel çaylarda, ballarda, gıda takviyelerinde ve baharatlarda bulunan toksik ikincil metabolitlerdir. PA'ların ve onların N-oksit türevlerinin gelişimsel toksisite sergilediği ve hepatotoksik, pnömotoksik ve kanserojen olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle, bu bileşiklerin doğru bir şekilde tanımlanması ve miktarlarının belirlenmesi için uygun şekilde doğrulanabilen hassas ve seçici analitik yöntemlerin geliştirilmesi yoluyla gıdalardaki oluşumlarının kontrol edilmesi önemlidir. Söz konusu gıda güvenliği sorununu ele almak için bu alkaloidlerle kontamine olması muhtemel gıda ürünleri için maksimum konsantrasyon limitleri düzenlenmiştir. Bununla birlikte, söz konusu alkaloidlerin toplum tarafından tüketim limitlerinin güvenilir biçimde değerlendirilmesi amacıyla gıda işleme ve sezyeltme faktörleri ile ilgili araştırmalar devam etmektedir. Bu derlemede, PA'ların kimyasal yapısı, sınıflandırılması, toksisitesi, farklı gıda gruplarındaki oluşumu, kontaminasyon yolları ve regülasyonların incelenmesi gibi genel hususlara ilişkin bir bakış sunulmaktadır.

### Investigation of the Presence of Pyrrolizidine Alkaloids in Different Food Groups and Legal Regulations

#### Article Info

Received: 09.10.2023  
Accepted: 18.01.2024  
Online April 2024

DOI: [10.53433/yyufbed.1373577](https://doi.org/10.53433/yyufbed.1373577)

#### Keywords

Food,  
Pyrrolizidinealkaloid,  
Pyrrolizidinealkaloid N-oxide,  
Regulation

**Abstract:** Recently, high levels of pyrrolizidine alkaloids (PAs) have been identified in many food products and highlighted as a food safety concern. Nowadays, precision analytical methods have been developed that allow the determination of the low pyrrolizidine alkaloids (PA) and their N-oxides (PANO) derivatives, which are toxic secondary metabolites found in mainly teas/herbal teas, honey, food supplements, and spices. PAs and their N-oxide derivatives have been shown to exhibit developmental toxicity and are hepatotoxic, pneumotoxic, and carcinogenic. Therefore, it is significant to control their formation in foods by improving precise and selective analytical methods, which can be appropriately validated to identify and quantify these compounds accurately. To address this food safety problem, maximum concentration limits have been set for foods likely to be contaminated with these alkaloids. However, research on food processing and dilution factors is ongoing to assess these alkaloids' public consumption limits reliably. The related review

provides an overview of the chemical composition, categorization, toxicity, formation in different food groups, contamination routes, and regulatory aspects of PAs.

## 1. Giriş

Son yıllarda, Gıda ve Yem Güvenliği Uyarıları (RASFF) portalında, farklı gıda gruplarında PA'ların ve bunların oksitlenmiş formlarının yüksek oranda bulunduğu dair bildirilen gıda uyarılarının sayısı önemli ölçüde artmıştır (RASFF, 2020). Bu doğal toksinlerin yüksek seviyelerde bulunması, önemli bir gıda güvenliği sorunu olarak vurgulanmıştır. PA'lar, bitkilerin otçullara ve böceklerle karşı bir savunma mekanizması olarak ürettikleri ikincil metabolitleridir. Bugüne kadar PA'lar (PANO'lar dahil) için 600'den fazla farklı yapı tanımlanmış ve çoğunlukla (yaklaşık %95) Asteraceae, Fabaceae, Boraginaceae, Orchidaceae ve Apocynaceae familyalarına ait olan 6000'den fazla bitki türünde tespit edilmiştir (EFSA, 2011). PA'ların alımı karaciğer hasarı ile ilişkilendirilmiş olup, özellikle karaciğer sirozu ve karaciğer yetmezliğine yol açabilen hepatikveno-oklüzif hastalığının (HVOD) başlıca nedenlerinden biri olarak kabul edilmektedir. Ayrıca, pulmoner hipertansiyon, kardiyak hipertrofi, böbreklerde dejeneratif hasarlar ve hatta ölüme neden olabilmektedir (Dusemund ve ark., 2018; Ma ve ark., 2018). PA ve PANO'lara uzun süreli maruz kalındığında genotoksik ve kanserojen etkiler meydana gelmektedir (Dusemund ve ark., 2018).

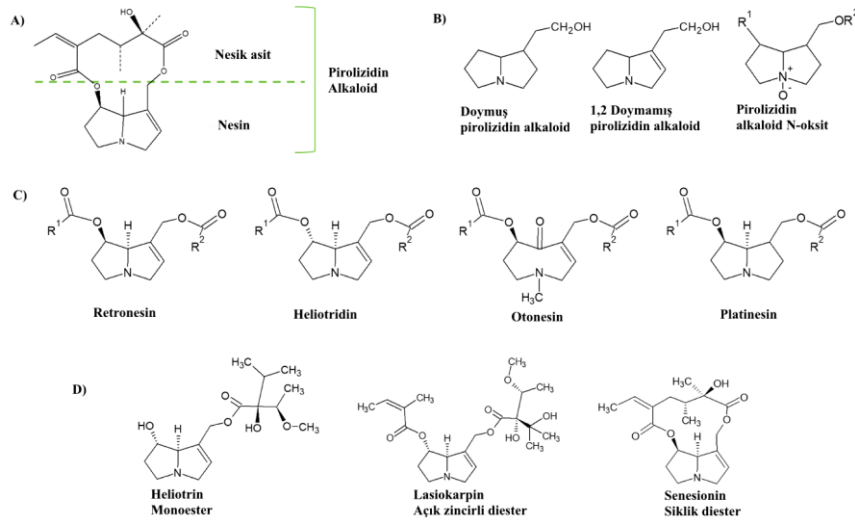
İnsanlarda PA'nın başlıca kaynağı PA üreten bitkilerle kontamine olmuş gıdaların tüketilmesidir. Bal, polen, bitkisel çaylar, gıda takviyeleri, baharatlar ve aromatik bitkiler, son yıllarda bildirilen gıda uyarılarına göre (RASFF, 2020), yüksek düzeyde PA'lar/PANO'larla kontamine olması muhtemel ana gıda maddeleridir. Bitkisel kaynaklı bu ürünlerin ana kontaminasyon kaynağının, PA içeren yabani otların birlikte hasat edilmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir (Kaltner ve ark., 2020; Schrenk ve ark., 2020). Bununla birlikte, son zamanlarda PA'ların/PANO'ların toprak yoluyla doğal transferi (Nowak ve ark., 2017; Selmar ve ark., 2019) veya üreticilerin ekonomik faydalar için taşıması (Picron ve ark., 2018) gibi başka kontaminasyon yolları öne sürülmektedir. Öte yandan, hayvanların PA üreten bitkilerle beslenmesinin sonucu olarak süt, et ve yumurta gibi hayvansal kökenli ürünlerde de PA'larla kontaminasyon tespit edilmiştir (Diaz ve ark., 2014; Huybrechts & Callebaut, 2015; Yoon ve ark., 2015; Chung & Lam, 2018; Mulder ve ark., 2018; Chen ve ark., 2021). Bu nedenle PA'ların/PANO'ların farklı gıda türlerinde yaygın olarak görülmesi ve insan sağlığı için potansiyel risk oluşturması gıda güvenliği sorunu olarak görülmektedir. Bu bileşiklerin çok düşük konsantrasyon seviyelerinde doğru bir şekilde tanımlanmasını ve miktarlarının belirlenmesini sağlayan hassas analitik yöntemler geliştirilmektedir. Ayrıca, oluşumları hakkındaki bilgileri genişletmek ve bu gıda güvenliği sorununu ele almak için çeşitli gıda matrislerindeki varlıkları değerlendirilmektedir (EFSA, 2016; EFSA, 2017).

Bu derlemenin amacı, farklı gıda gruplarındaki PA'ları değerlendiren bilimsel yayınların incelenmesinin yanı sıra, yasal regülasyonlar ve toksisite hakkında kısa veriler de dahil olmak üzere PA'nın kimyasal özellikleri hakkında önemli bilgileri özetlemektir. Bu bilgiler, PA'nın kontaminasyonu ve yüksek oranda tüketiminin en aza indirilmesi konusunda çözümler elde etmeye yönelik uygulamaların geliştirilmesine katkıda bulunabilir.

## 2. Piroлизidin Alkaloidlerinin Kimyası ve Toksisitesi

Tüm PA'lardaki ortak kimyasal yapı, iki yapısal bileşenden oluşan, 4. pozisyonda bir azot heteroatomuna sahip iki kaynaşmış pirol halkası içerir: nesin bazı (pirolizidinden türetilen amino-alkol) ve nesin asit (valin, treonin, lösin veya izölösün gibi dallı zincirli amino asitlerden türetilir) (Şekil 1a). Nesin bazının 1 ve 2 pozisyonları arasında bir çift bağın var olup olmamasına bağlı olarak iki ana PA grubu vardır; 1,2 doymamış PA'lar ve doymuş PA'lar (Şekil 1b). Benzer şekilde, nesin baz yapısına göre, 1,2-doymamış PA'lar retronesin-, heliotridin- ve otonesin-tipleri olarak sınıflandırılabilirken, platinesin-tipi doymuş PA'lara karşılık gelmektedir (Şekil 1c). Retronesin- ve heliotridin tipleri bisiklik halka gösterir ve aralarında 7. pozisyonda farklı oryantasyona sahip diastereomerler bulunurken, otonesin tipleri 8. pozisyonda oksitlenir ve monosiklik bir halka gösterir (Şekil 1c). Bu bileşiklerin hepatotoksik, pnömotoksik, genotoksik, karsinojenik olduğu ve gelişimsel

toksosite sergilediği gösterilmiştir. Bununla birlikte, PA'ların kendileri biyolojik ve toksikolojik olarak inaktifpro-toksinlerdir ve toksosite göstermek için metabolik olarak aktive edilmeleri gerekir. Sonuç olarak, hepsi toksik değildir. Bu anlamda, nesin bazındaki çift bağın varlığı bu bileşiklerin toksisitesini artırır; çünkü vücuda girdikten sonra, diğer sağlık sorunlarının yanı sıra hücrel etkilere yol açabilen ve hepatotoksosite gösterebilen oldukça reaktif pirol ara ürünlerine aktive olurlar. Buna karşılık, doymuş PA'lar, reaktif pirollele metabolik aktivasyona uğramazlar, bu nedenle genotoksik veya kanserojen olarak kabul edilmezler (EFSA, 2011; Dusemund ve ark., 2018). Ayrıca, bir veya her iki hidroksil grubunun esterleşmesine bağlı olarak, 1,2-doymamış PA'larmonoesterler, açık zincirli diesterler veya siklik diesterler olarak ortaya çıkabilir (Şekil 1d). Ayrıca, bu bileşikler N-oksit formunda veya tersiyer bazda (PANO'lar) olduklarında metabolit olarak da görülebilirler (Şekil 1b). Bununla birlikte, sadece retronsin ve heliotridin tipi PA'lar PANO üretebilir; çünkü ontonesin tipi PA'larda azottaki metilasyonları nedeniyle N-oksidasyonu gözlenmez (Moreira ve ark., 2018) (Şekil 1c). Buna göre, yapısal benzerliklerine ve botanik kökenlerine dayanarak, 1,2-doymamış PA'lar dört ana ailede sınıflandırılabilir (Picron ve ark., 2018), bunlar Çizelge 1'de gösterilmiştir.



Şekil 1. (a) Piroлизidin alkaloidlerinin ortak kimyasal yapısı, (b) pirolizidin alkaloidleri için farklı formlar (R1 ve R2 farklı nekik asitlere karşılık gelir), (c) neklin bazına göre pirolizidin alkaloid türleri ve (d) esterleşme türlerine göre farklı 1,2-pirolizidin alkaloidleri (Casado ve ark., 2022).

Çizelge 1. 1,2-doymamış pirolizidin alkaloidlerinin yapısal benzerliklerine ve botanik kökenlerine göre sınıflandırılması (Casado ve ark., 2022)

Familiya	Kimyasal yapısı	Piroлизidin alkaloidleri içeren	Botanik orijin
Heliotridin tipi	Açık zincirli monoesterler ve diesterler	Heliotrin, europin, lasiokarpin ve bunların N-oksitleri	<i>Boraginaceae</i>
Likopsamin tipi	Açık zincirli monoesterler ve diesterler	Eşhimidin, indicin, intermedin, likopsamine ve bunların N-oksitleri	<i>Boraginaceae, Asteraaceae ve Apocynaceae</i>
Monokrotalin tipi	Makrosiklik diesterler	Monokrotalin, monokrotalin N-oksit ve trikodesmin	<i>Fabaceae</i>
Senesiyonin tipi	Makrosiklikdiesterler	Erusifoline, jakobin, retrosin, senesionin ve N-oksitleri	<i>Asteraceae, Fabaceae ve Jacobeeae</i>

Piroлизidin alkaloidlerinin toksisitesi, metabolizması ve risk değerlendirmesi hakkında daha kapsamlı bir inceleme yapılmıştır (Dusemund ve ark., 2018; Xu ve ark., 2019; Schrenk ve ark., 2020). 1,2-doymamış PA'ların toksiko kinetiği ile ilgili olarak, oral alımlarından sonra gastrointestinal sistemde hızla emilirler. Daha sonra, metabolik olarak dönüştürülürler. Biyoaktivasyonları esas olarak karaciğerde gerçekleşir; bu organın söz konusu bileşiklerin toksisitesinden daha çok etkilenmesinin nedeni budur. Bununla birlikte, akciğerler ve böbrekler de zarar görebilmektedir (Moreira ve ark., 2018). Genel olarak, PA'ların metabolik aktivasyonu için üç ana yol vardır: (i) nesin bazları ve nesik asitlere yol açan hidroliz, (ii) nesin bazlarının karşılık gelen PANO'lara N-oksidasyonu ve (iii) oldukça

reaktif pirollerin (pirolik esterler veya dehidropirolizidin alkaloidler (DHPA)) oluşumuna yol açan oksidasyon. Hidroliz ve N-oksidasyon yolları PA'ların ve PANO'ların oluşumunu teşvik ederken, oksidasyon yolu reaktif pirollere dönüştürerek bu bileşiklerin yüksek toksisitesinden sorumlu olmaktadır (Dusemund ve ark., 2018; Moreira ve ark., 2018; Xu ve ark., 2019).

### 3. Pirolizidin Alkaloidleri Risk Yönetimi ve Bulgular

PA/PANO'nun potansiyel toksisite riskleri nedeniyle çaylarda (BfR, 2013; Bosi ve ark., 2013; Chung & Lam, 2017; Van Wyk ve ark., 2017), süt ve süt ürünlerinde (Hoogenboom ve ark., 2011; Van Wyk ve ark., 2017), yumurta (Mulder ve ark., 2016; Van Wyk ve ark., 2017) ve ballar (Mudge ve ark., 2015; Valese ve ark., 2016; Letsyo ve ark., 2017; Chung & Lam, 2018; Kowalczyk ve ark., 2018; Zhu ve ark., 2018) üzerinde çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Bu bağlamda, 2007 yılında Avrupa Komisyonu'nun talebi üzerine Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA), PA'yı hayvanların beslenmesinde istenmeyen maddeler olarak kabul eden ilk bilimsel görüşü yayınlamıştır (EFSA, 2007). EFSA, 2011 ve 2017 yıllarında da gıda ve yemlerde PA bulunmasına bağlı olarak insan ve hayvan sağlığına yönelik riskler (EFSA, 2011), bal, çay, bitkisel infüzyonlar ile gıda takviyelerinde PA bulunmasına bağlı olarak insan sağlığına yönelik riskler (EFSA, 2017) hakkında yeni bilimsel görüşler yayınlamıştır. EFSA'nın yanı sıra, Alman Federal Risk Değerlendirme Enstitüsü (BfR, Bundesinstitut für Risikobewertung) de gıdalarda ve gıda takviyelerinde PA varlığına ilişkin bilgilerin derlenmesine aktif olarak katkıda bulunmuştur. Batı ülkelerinde tüketilen kontamine olmuş çay ve balların PA intoksikasyonuna sebebiyet verebileceği gözlemlenmiştir (BfR, 2011 ve 2013).

Afrika, Pakistan, Afganistan ve Hindistan'da PA ile kontamine olmuş gıdaların tüketilmesi sonucu insan zehirlenmesi vakalarına ilişkin çok sayıda kayıt bulunmaktadır (Dusemund ve ark., 2018). İnsanların PA ile akut zehirlenmesi, genellikle PA ile kontamine olmuş tahıl ve unun sık tüketimi ile ilişkilidir (Stegelmeier ve ark., 2016).

EFSA tarafından bildirildiği üzere, Afganistan'da 7200 köy sakini *Heliotropium popovii* tohumlarıyla kontamine olmuş buğday ekmeği tüketiminden zehirlenmiştir. Tohumların yaklaşık 14.9 g/kg PA içerdiği ve bir yetişkinin günde yaklaşık 2 mg PA içeren en az 700 g un tükettiği tahmin edilmektedir. Bu durumda 60 kg'lık bir kişi için günde 0.023 mg PA/kg vücut ağırlığına maruz kaldığı hesaplanmıştır (EFSA, 2011). Hindistan'da *Crotalaria* türlerinin tohumlarıyla kontamine olmuş darının (*Panicummiliare*) tüketilmesiyle ortaya çıkan bir salgında, darıda yaklaşık 19 g/kg PA tespit edilmiştir. Buna istinaden günlük 400 g darı/yetişkin alımına dayanarak, 40 mg/gün'e kadar PA alımı tahmin edilmiştir (EFSA, 2011).

Zhu ve ark. (2017), PA türevi içeren DNA parçasının tekli ve çoklu dozlarını fareler üzerine uygulayarak PA türevi DNA eklenti oluşumu ve uzaklaştırılmasının doza bağlı tepkisi ve kinetiğini incelemiştir. Çalışmanın sonucunda çoklu doz uygulamasına ait tedavinin tekli doza oranla daha uzun sürdüğü görülmüştür. Bu durumda çoklu dozda PA alımlarının vücutta kalıcı olabileceğine dair bir öngörü sağlanmıştır. Dünya çapında iyi kurulmuş bir kayıt sisteminin bulunmaması, spesifik ve doğrulayıcı tanıların mevcut olmaması nedeniyle PA'nın neden olduğu diğer zehirlenme vakaları henüz tam olarak kaydedilememiştir. Bugüne kadar insanlarda PA içeren gıdaların (süt, çay, bal, propolis ve diğerleri) tüketiminden kaynaklanan kanser vakalarına ilişkin herhangi bir kayıt bulunmamaktadır. Potansiyel sağlık tehlikelerinin bir sonucu olarak, düzenleyici kuruluşlar bilim camiasında farklı yaklaşımlar aramakta ve özellikle düşük seviyeli maruziyetlerin kronik risklerine odaklanmaktadır (BfR, 2016; EFSA, 2017).

Tüm bu rapor ve belgelerle, diğer tavsiyelerin yanı sıra, nüfusun PA'lara ve PANO'lara maruz kalma seviyelerinin hala belirsiz olduğu sonucuna varılabilmektedir. Bu nedenle, bu kontaminantlara maruz kalma belirsizliğinin azaltılabilmesi için farklı gıdalarda PA'ların oluşumuna ilişkin verilerin toplanmaya devam edilmesine ihtiyaç bulunmaktadır. Son zamanlarda, 1881/2006 sayılı Tüzüğü (EC) tadil eden 2020/2040 sayılı Komisyon Tüzüğü (EU) ile bazı gıda maddelerindeki bu alkaloidlerin maksimum konsantrasyon seviyeleri yasalastırılmıştır. Bu limitler, 1 ile 1000 µg/kg arasında değişen farklı gıdalarda bulunabilecek maksimum toplam PA/PANO konsantrasyonunu ifade etmektedir (Çizelge 2) (The European Commission, 2023).

Çizelge 2. Farklı gıda ürünlerindeki pürolizidin alkaloidleri için maksimum konsantrasyon seviyeleri  
(The European Commission, 2023)

Gıda ürünleri	Maksimum konsantrasyon limiti (µg/kg)
Bitkisel infüzyonlar (kurutulmuş ürün)- Rooibos, Anason, Melisa, Papatya, Kekik, Nane, Limon mine çiçeği ve özel karışımlar bu kurutulmuş bitkilerden oluşur.	400
Yukarıda yer almayan diğer bitkisel infüzyonlar (kurutulmuş ürün)	200
Çay ( <i>Camelliasinensis</i> ) ve aromalı çay ( <i>Camellia sinensis</i> ) (kurutulmuş ürün)	150
Çay ( <i>Camelliasinensis</i> ), aromalı çay ( <i>Camellia sinensis</i> ), bebekler ve çocuklar için bitkisel infüzyonlar (kuru)	75
Çay ( <i>Camelliasinensis</i> ), aromalı çay ( <i>Camelliasinensis</i> ) ve bebekler ve çocuklar için bitkisel infüzyonlar (sıvı)	1
Polen bazlı gıda takviyeleri, polen ve polen hariç olmak üzere ekstraktlar dahil bitkisel içerikli gıda takviyeleri ürünler	400
Polen bazlı gıda takviyeleri, polen ve polen ürünler	500
Kurutulmuş şifalı otlar	400
Hodan, selâmotu, mercanköşk ve kekik (kurutulmuş) ve sadece bunlardan oluşan karışımlar kurutulmuş otlar	1000
Hodan yaprakları (taze, dondurulmuş)	750
Kimyon tohumu (tohum baharatı)	400

Şu anda EFSA, intermedin, intermedin N-oksit, likopsamin, likopsamin N-oksit, senesionin, senesionin N-oksit, senesivernin, senesivernin-N-oksit, senesiphylline, senesiphylline-N-oksit, retrorsin, retrorsin-N-oksit, eşhimidin, eşhimidin-N-oksit, lasiokarpın, lasiokarpın-N-oksit ve senkirkin dahil olmak üzere gıda maddelerinde izlenmesi gereken 17 PA/PANO'dan oluşan bir set önermiştir (EFSA, 2017). Bu bileşikler, ilgili toksisiteleri ve gıdalarda sıkça bulunmaları nedeniyle seçilmiştir. Bununla birlikte, bazı gıdalarda bu bileşiklerin kayda değer bir şekilde bulunması nedeniyle, europine, heliotrin ve bunların N-oksitlerini de dahil ederek gıdalarda izlenen PA/PANO sayısı 17'den 21'e çıkarılmıştır (Picron ve ark., 2018; Picron, 2018).

Öte yandan, Avrupa'daki diğer belirli kurumlar da bu kontaminantların varlığını izlemek için kılavuzlar belirlemiştir. Almanya'da PA'lar 1992 yılından beri Federal İlaç Yönetmeliđi (Bundesgesundheitsamt, 1992) ile düzenlenmektedir. Bu yönetmeliğe göre, 1,2-doymamış PA'ların (PANO'lar dahil) toplam oral alım limiti, günde 1 µg PA/PANO'yu geçmemelidir. Ancak alım 6 haftadan uzun sürerse limit günde 0.1 µg PA/PANO'ya düşürülür. 2007 yılında, BfR multidisipliner bir komitesi, riskin hesaplanamadığı, bilimsel veri eksikliği nedeniyle maruziyet sınırlarının türetilmediği, bileşiklerin kanserojenik veya mutajenik etkiler gösterdiği durumlarda Avrupa Birliđi



tarafından önerilen "sıfır tolerans ilkesini" uygulamayı düşünmüştür (BfR, 2007). 2011 yılında PA'ların toplam maruziyetinin mümkün olduğunca düşük tutulması, günlük 0.007 µg/kg vücut ağırlığı alımının aşılması tavsiye edilmiştir (BfR, 2011). O zamandan beri BfR, tüketicilerin PA'lara toplam maruziyetini mümkün olduğunca düşük tutmayı ve piyasaya dağıtılmadan önce farklı gıda kaynaklarının (bitki çayları gibi) partilerindeki PA içeriğini kontrol etmeyi önermektedir.

İsviçre'de, fitofarmasötikler için Almanya'dakiyle aynı düzenlemeler uygulanmaktadır ve Avusturya'da bitkisel ilaçlar için yasal durum benzerdir. Avusturya'da sadece birkaç PA üreten bitki ve bunların preparatlarına izin verilmektedir ve bunlar ancak nihai ürünün PA içermediğini kanıtlayan güvenilir bir tespit yöntemi ile analiz edildikten sonra pazarlanabilmektedir (Merz & Schrenk, 2016).

Hollanda'da PA'ların sınırı bitkisel katı preparatlar için 1 µg/kg ve bitkisel sıvı ekstraktlar için 1 µg/L olarak belirlenirken; Hollanda Ulusal Halk Sağlığı ve Çevre Enstitüsü (RIVM) tarafından tolere edilebilir günlük alım miktarı 0.1 µg/kg vücut ağırlığı olarak önerilmiştir (Kräuterbeschluss, 2001; RIVM, 2005). Birleşik Krallık'ta (UK), Tüketici Ürünleri ve Çevredeki Kimyasalların Toksikitesi Komitesi (COT) günde 0.007 µg/kg vücut ağırlığına kadar olan PA dozlarının kanser riskini artırma ihtimalinin düşük olduğunu tespit etmiştir. Bununla birlikte COT, bal için 6.4 µg/kg'lık bir maksimum PAs limiti önermektedir (COT, 2008). Avrupa İlaç Ajansı da günlük maksimum 0.007 µg/kg vücut ağırlığı alımını önermektedir (EMA, 2016).

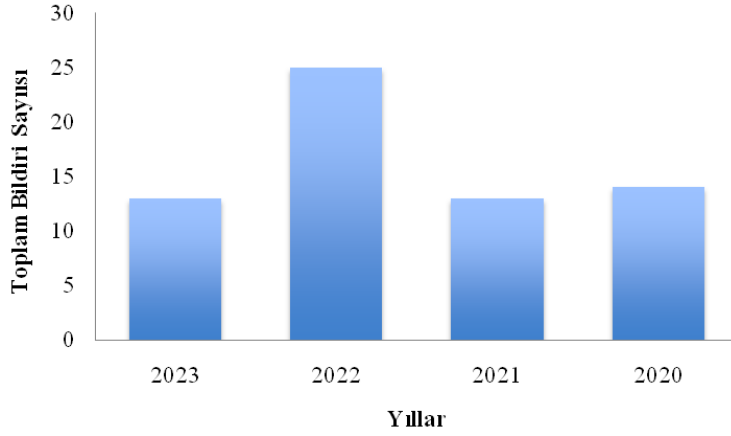
Avustralya ve Yeni Zelanda gibi Avrupa dışındaki diğer bölgelerde, PA'ların insan tüketimi, yalnızca kronik maruziyet senaryosunda bir risk olarak kabul edilmektedir. Bu ülkelerde tolere edilebilir günlük alım miktarı 1 µg/kg vücut ağırlığı olarak önerilmektedir (ANZFA, 2001).

#### 4. Farklı Gıda Gruplarındaki Piroлизidin Alkaloidlerin İncelenmesi

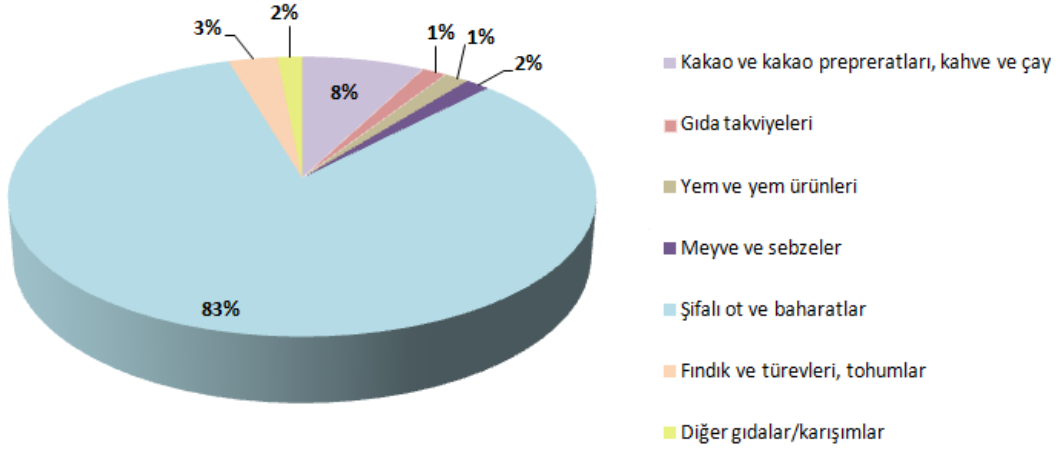
Son yıllarda farklı gıda gruplarında PA/PANO'ların belirlendiği çalışmalar Çizelge 3'te özetlenmiştir. PA/PANO'ların oluşumu bal, tahıllar, unlar, salatalar, çaylar, bitkisel çaylar, baharatlar, aromatik bitkiler, süt ve süt ürünleri, yumurta, et ve et ürünleri ile gıda takviyeleri, içecekler ve atıştırmalıklar dahil olmak üzere hem bitkisel hem de hayvansal kaynaklı ürünlerde değerlendirilmiştir. Hayvansal kaynaklı ürünlerde PA'ların kontaminasyonuna sık rastlanmadığı görülmüştür. Hayvanların beslendiği yem alanlarında veya yemlerde PA içeren bitkiler bulunabilmektedir. Bu kontaminantlar hayvanlar tarafından tüketildiklerinde hayvansal kaynaklı ürünlere de aktarılabilmektedir (EFSA, 2011). PA'ların yumurta ve ette tespit edilmesi ile bu olgu doğrulanmaktadır (Edgar & Smith, 2000; Hoogenboom ve ark., 2011; Diaz ve ark., 2014; Mulder ve ark., 2016; Colegate ve ark., 2018).

Mulder ve ark. (2018) Avrupa pazarında bir analiz gerçekleştirmiş ve analiz edilen süt örneklerinin %6'sının (182 örnekten 11'i) ve yumurta örneklerinin %1'inin (205 örnekten 2'si) PA'larla kontamine olduğunu ortaya koymuştur. Bununla birlikte, bulunan PA seviyeleri nispeten çok düşük bulunmuş ve analiz edilen et ve et ürünlerinde PA tespit edilememiştir. Öte yandan, Belçika'da yapılan bir piyasa araştırmasında, süt ve süt ürünlerinin yanı sıra et ürünlerinde de PA'ların varlığı tespit edilmiştir. Analiz edilen örnekler arasında karaciğer ve ördek eti bazlı ürünlerin diğer et ürünlerine kıyasla PA kontaminasyonunun daha fazla olduğu tespit edilmiştir (Picron, 2019).

Bitki kaynaklı ürünlerde PA'lar yaygın olarak tespit edilmektedir. Bu doğrultuda EFSA, bal, çay, bitkisel çaylar ve gıda takviyelerini yüksek düzeyde PA/PANO ile kontamine olması muhtemel gıda maddeleri olarak tanımlamıştır (EFSA, 2017). Yapılan bir çalışmada, analiz edilen (bitkisel) çayların %91'inin ve gıda takviyelerinin %60'ının ölçülebilir miktarlarda en az bir bireysel PA içerdiği belirtilmiştir (Mulder ve ark., 2018). 2012 yılından bu yana, RASFF portalında gıda ürünlerinde PA'ların/PANO'ların varlığıyla ilgili olarak bildirilen gıda uyarıları çoğunlukla bitkisel gıda takviyeleri, polen, bal ve (bitkisel) çaylar için yapılmıştır (RASFF, 2023) (Şekil 2b). Bununla birlikte, son dört yılda RASFF bildiri sayısı artarken (Şekil 2a), özellikle 2022-2023 yılları detaylı olarak incelendiğinde bu bildirimlerin baharatlar ve aromatik bitkiler üzerinde yoğunlaştığı görülmüştür (Şekil 2b). Özellikle şifalı ot grubuna giren kekiğin sahip olduğu yüksek PA miktarları için yapılan uyarıların sayısı yıllar içerisinde artış göstermiştir (RASFF, 2023). Bununla birlikte, şu anda, baharatlarda ve aromatik bitkilerde PA/PANO'ların tespitine odaklanan çalışmalar literatürde diğer gıda matrislerine göre daha azdır (Cramer ve ark., 2013; Kapp, 2017; Picron ve ark., 2018; Izgara ve ark. 2020; Kaltner ve ark., 2020). Çizelge 3, 2011 yılından bu yana farklı gıda ürünlerinde PA/PANO'ların ortaya çıkmasıyla ilgili olarak yayımlanan gıda uyarılarının ayrıntılı bir açıklamasını göstermektedir.



Şekil 2a. 2020'den 2023'e pırolizidin alkaloidlerinin ortaya çıkmasıyla ilgili gıda uyarılarının sayısının gelişimi (RASFF, 2023).



Şekil 2b. Gıda uyarılarının kontamine olan gıda maddesine göre dağılımı (RASFF, 2023).

Bitkisel kaynaklı bu ürünlerin PA/PANO'larla kontaminasyonunun, hasat sırasında yabancı otların veya PA üreten bitkilerden gelen yabancı maddelerin dahil edilmesinden kaynaklandığı varsayılmaktadır (Kaltner ve ark., 2020). Bununla birlikte, PA/PANO'ların toprak yoluyla yatay doğal transferini içeren alternatif kontaminasyon yolları da son zamanlarda çeşitli çalışmalarda önerilmektedir (Nowak ve ark., 2016, 2017; Selmar ve ark., 2019). PA'lar ölü ve çürüyen bitki materyallerinden toprağa sızarak alıcı bitkiler (PA üretmeyen bitkiler) tarafından alınabilir (Nowak ve ark., 2017; Selmar ve ark., 2019). PA içermeyen bitkilerin (nane ve papatya) kuru *Senecio* spp. yapraklarıyla (PA üreten bir bitki) elleçlenmesiyle yapılan ön çalışmalar, PA'ların toprak yoluyla alımını doğrulamaktadır (Nowak ve ark., 2017). Bununla birlikte, toprak yoluyla doğal transferin yakınlarda büyüyen canlı bitkiler arasında da gerçekleşebileceği doğrulanmıştır (Selmar ve ark., 2019). Buna göre, Selmar ve ark. (2019), PA üreten bir bitki olan kanarya otu (*Senecio jacobaea*) ile PA içermeyen bir bitki olan maydanozu aynı saksıda birlikte yetiştirmiştir. *Senecio* donör bitkisi tarafından sentezlenen PA'ların maydanoz bitkisine aktarıldığı gözlemlenmiştir. PA transferinin her iki bitkinin yapraklarının doğrudan teması ile gerçekleşip gerçekleşmeyeceğini değerlendirmek amacıyla, yapraklar arasındaki teması önlemek için plastik muhafazalar kullanılarak ek bir deney yapılmıştır. Alıcı bitkiye aktarılan PA miktarının, plastik muhafazalar varken ve yokken benzer olduğu, bu nedenle yapraktan yaprağa doğrudan bir transferin göz ardı edilebileceği saptanmıştır (Selmar ve ark.,

2019). Bu deneylerle, PA'ların donörden alıcı bitkilere aktarımının, doğrudan yapraktan yaprağa veya kökten köke aktarımı göz ardı edilerek, toprak yoluyla bir alımı içerdiği de doğrulanmıştır.

Bal örneklerinde PA/PANO'larla kontaminasyon, genellikle PA üreten bitkilerden polen ve nektar toplayan arıların nektara polen bırakması yoluyla meydana gelmektedir (Kempf ve ark., 2011). Arıların üretim sırasında bala kazara veya kasıtlı olarak polen de katabilirler (Ma ve ark., 2018; Colegate ve ark., 2018). Birçok ülkede arıların bal üretiminde düzenli olarak bazı PA üreten bitkileri kullanılmaktadır (Colegate ve ark., 2018; Moreira ve ark., 2018). Bu nedenle, balın PA/PANO'larla kontaminasyonunu azaltmaya yardımcı olabilecek önleyici bir tedbir, arı kovanlarının yerleştirileceği yerlerin dikkatlice seçilmesi ve arılar için çekici olabilecek PA üreten bitkiler hakkında bilgi edinilmesi gibi iyi arıcılık uygulamalarının başlatılması olabilir. Bal örneklerinde bu alkaloidlerin ortaya çıkmasından sorumlu ana bitkilerin *Echium* spp., *Senecios* pp., *Eupatorium* spp. ve *Borago* spp. olduğu belirtilmiştir. Sonuç olarak, senesinin, echimidin ve likopsamin arı kovanı ürünlerinde ve türevlerinde yaygın olarak bulunan PA'lardır (Kempf ve ark., 2011; Moreira ve ark., 2018). Bu alkaloidlerin oluşumu coğrafi köken tarafından da doğrudan etkilenmektedir. Örneğin, Picron ve ark. (2020) tarafından yürütülen Belçika pazar araştırmasında, PA'ların kontaminasyonu hem yabancı hem de Belçika bal örneklerinde değerlendirilmiştir. Analiz edilen yabancı örneklerin %90'nının kontamine olduğu ve bu kontamine örneklerin İspanya, Fransa, Yunanistan ve Türkiye gibi Akdeniz ülkelerine ait olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca Latin Amerika menşeli ballar da çalışmaya dahil edilmiştir. Bu örneklerde, likopsamin, intermedin, eşimidin ve heliotrin oluşumu vurgulanmıştır. Belçika menşeli bal örnekleri daha az kontamine olmuş (analiz edilen örneklerin %67'si) ve yabancı ballardan farklı bir kontaminasyon profili sergilemiştir. Çünkü örneklerde bulunan baskın PA'lar senesinin tipine aittir. Bu kontaminasyon modeli, *Senecio vulgaris* gibi *Senecio* türlerinin bolca bulunduğu Belçika florası ile tutarlıdır (Picron ve ark., 2020). Diğer yazarlar da İspanya, Avustralya, Yeni Zelanda, Kuzey Amerika, İrlanda, İsviçre ve Çin gibi belirli coğrafi bölgelerden gelen balları değerlendirmiştir (Orantes-Bermejo ve ark., 2013; Kast ve ark., 2014; Mudge ve ark., 2015; Griffin ve ark., 2015). Genel olarak, ekimidin ve likopsamin tüm bu örneklerde bulunan ana PA'lardır. Bununla birlikte, diğer bölgelerdeki ballarda hiç tespit edilemeyen bir PA olan monokrotalin (*Crotalaria* spp.'den), Çin'den gelen kontamine ballarda baskın olduğu görülmüştür (He ve ark., 2020).

Bal dışında, gıda takviyesi olarak kullanılan diğer arı kovanı ürünleri (polen, propolis ve arı sütü) ve bal bazlı ürünler (atıştırmalıklar, şekerler ve bebek mamaları), bu alkaloidlerle kontaminasyon derecelerini değerlendirmek için analiz edilmiştir (Kempf ve ark., 2011; Mulder ve ark., 2015; Mulder ve ark., 2018; Picron ve ark., 2020). Yapılan çalışmalarda sonuçlar incelendiğinde, analiz edilen bal bazlı gıda takviyelerinin %66-91'inin PA/PANO'lar ile kontamine olduğu görülmektedir. Polen ürünleri, propolis ve arı sütünde bulunan seviyelere kıyasla en yüksek kontaminasyona sahip ürünlerdir (Kempf ve ark., 2011; Mulder ve ark., 2015; Mulder ve ark., 2018; Picron ve ark., 2020). Polen için tespit edilen konsantrasyon seviyeleri ortalama 555-576 µg/kg değerlerine sahipken, diğer gıda takviyeleri (propolis ve arı sütü) için değerler 0.6-15.5 µg/kg arasındadır. Mulder ve ark. (2018) analiz edilen gıda takviyelerinin %9'unun yüksek değerlerle kontamine olduğunu tespit ederken, Picron ve ark. (2020), analiz ettiği 5 polen örneğinden birinin 1672 µg/kg'a kadar kontamine olduğunu tespit etmiştir. Likopsamin tipi bileşikler, ekimidin, likopsamin, intermedin ve bunların N-oksit formları bu örneklerde bulunan baskın alkaloidlerdir (Mulder ve ark., 2018; Picron ve ark., 2020).

Öte yandan, atıştırmalıklar ve şekerler gibi bal bazlı ürünlerin kontaminasyonu, bal bazlı gıda takviyelerinden daha azdır ve pozitif örnekler, yalnızca düşük seviyelerde PA'larla kontamine olmuştur (Kempf ve ark., 2011; Orantes-Bermejo ve ark., 2013). Kempf ve ark. (2011), diğer bal bazlı gıda maddelerinin yanı sıra 10 şekerleme, 7 güçlendirici bar ve tahıl, 5 meşrubat, 3 bebek maması ve 3 yenilebilir jöle örneğini analiz etmiştir. Bu ürünlerden sadece 2 şekerlemede 10 adet ve 40 ng/g konsantrasyon seviyesinde PA'lar bulunmuştur. Picron ve ark. (2020), 39 bal bazlı atıştırmalık (kahvaltılık tahıllar, tahıl barları ve zencefilli çörekler dahil) ve 13 şekerli değerlendirmiştir. Atıştırmalıkların sadece üçte biri kontamine olmuş ve tahıl barlarından hiçbirinde PA tespit edilmemiştir. Atıştırmalık örneklerinde bulunan maksimum kontaminasyon seviyesi 0,36 ng/g'dır. Likopsamin tipi PA'lar kontamine kahvaltılık gevrek örneklerinde baskınken, heliotrin tipi bileşikler zencefilli çörek örneklerinde yüksek miktarda bulunmuştur. Şekerleme örneklerinin %46'sında PA kontaminasyonu tespit edilmemiştir. Tespit edilen maksimum konsantrasyon Akdeniz balı bazlı bir şekerlemede 7,61 ng/g olup, daha önce Akdeniz balları için tanımlanan kontaminasyon profiline uyan ekimidin (6,47 ng/g) içerdiği vurgulanmaktadır (Picron ve ark., 2020)



Tahıllar ve salatalar gibi diğer bitkisel kaynaklı ürünlerin kontaminasyonu da değerlendirilmiştir. Tahıl ürünlerinde yabancı otların ve yabancı tohumların varlığını önlemek için daha sıkı tarım kontrol uygulamaları olduğundan, tahıllarda PA/PANO'ların oluşumu daha sınırlıdır (Edgar ve ark., 2015). Bu alkaloidler buğday, un ve diğer tahıl bazlı ürünlerde düşük seviyelerde tespit edilmiştir. Bu da değerlendirilmesi ve ele alınması gereken yavaş kronik toksisite etkisine sahip olduğunu göstermektedir (Edgar ve ark., 2015; Colegate ve ark. 2018; Letsyo ve ark., 2021; Azadbakht & Talavaki, 2022). Salatalarla ilgili olarak, salatalar için kullanılan yenilebilir bitkilerin PA ürettiği bilinmemektedir. Bazı PA üreten bitkilerin yaprakları (özellikle *Senecio vulgaris*) diğer salata bitkilerinin yapraklarına benzer bir görünüme sahiptir ve bu da karışıklığa yol açabilir. Picron ve ark. (2018) önceden paketlenmiş 17 salata örneğini analiz etmiştir. Örneklerin %70'i, 0.1 ng/g'den daha az PA/PANO ile kontamine olmuş; ancak 3 örnek 2.59, 5.20 ve 10.47 ng/g seviyelerinde bulunmuştur. Bulunan PA'lar yalnızca senesinin tipindedir. Örneklerin hiçbirinin etiketinde PA içeren bitki yazmamasına rağmen PA tespit edilmesi, bu kontaminasyonun hasat veya çapraz kontaminasyondan kaynaklandığını göstermektedir.

Çizelge 3. Bazı gıda örneklerinde bulunan pirolizidin alkaloidlerinin konsantrasyon seviyeleri

Gıda matriksi	Toplam PA/PANO sayısı	Toplam PA miktarı	Kaynakça
Süt	21	9.71 µg/L	Hoogenboom ve ark. (2011)
Bal	17	1–1087 µg/kg	Dübecke ve ark. (2011)
Bal	16	0–13019 µg/kg	Kempf ve ark. (2011)
Bal, polen ve bal bazlı ürünler (bal likörü, şekerleme, rezene balı, alkolsüz içecekler, enerji barları, tahıllar, jöleli bebek mamaları, meyve sosu)	6	10 µg/kg	Kempf ve ark. (2011)
Bal	2	2.0/6.0 µgretrosecine eşdeğerleri/kg	Cramer & Beuerle (2012)
Bal ve bal likörü	7	50 ng/g	Griffin ve ark. (2013)
Bal	11	0.0134 - 0.0305/ 0.0446–0.1018 µg/ mL	Orantes-Bermejo ve ark. (2013)
Bal	17	1–3 µg/kg	Diaz ve ark. (2014)
Yumurta	2	2 ng/g	Vaclavik ve ark. (2014)
Bitkisel gıda takviyesi	11	≤10/≤50 - 2500 µg/ kg	Martinello ve ark. (2014)
Bal	9	0.021–1.39/ 0.081–4.35 µg/kg	Griffin ve ark. (2014)
Bitki çayı	14	0.4 - 1.9/1.3–6.3 µg/ kg	Bodi ve ark. (2014)
Bal ve bitki çayı	17	0.06–2.0/0.18–6.4 µg/kg	Izcarra ve ark. (2020)
Kekik	21	0.1–7.5/0.5–25.0 µg/ kg	Kaczyński & Łozowicka (2020)
Şifalı otlar	30	<0.1–2.6/- µg/kg	

## 5. Sonuç

Piroлизidin alkaloidleri, çaylar, bitki çayları, bal ve arı ürünlerinde, gıda takviyelerinde, aromatik bitkilerde ve baharatlarda bulunan, son yıllarda toksik özelliği ile bilinen bir kontaminanttır. Ballarda bu durumun diğer gıda ürünlerine göre daha önce tespit edilmesi ile yapılan birçok çalışma mevcuttur. Bildirilen gıda güvenliği uyarıları incelendiğinde, son üç yıl içerisinde özellikle aromatik bitkiler ve baharatlarda söz konusu kontaminant değeri oldukça yüksektir. Birçok ilaç ve gıda takviyesinin bir bileşeni olan bu grup, PA'nın direkt olarak vücuda alınmasında yüksek maruziyet yaratmaktadır. Yapılan çalışmalar incelendiğinde hasat sırasında dikkat edilmesi gereken konular belirlenirken PA'ların degradasyonu hakkındaki veriler sınırlıdır. Kasıtlı olmadan meydana gelen kontaminasyonlar nedeniyle tüm gıda gruplarındaki ürünlerin imhası sürdürülebilirlik açısından olumsuz etki yaratacaktır. Bu nedenle, yeşil çevrenin korunması kapsamında insan ve hayvan sağlığı göz önüne alınarak PA/PANO'ların degradasyon koşulları ve dönüşüm mekanizması hakkında daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

## Kaynakça

- ANZFA. (2001). Pyrrolizidine alkaloids in food. *A toxicological review and risk assessment*. <https://www.foodstandards.gov.au/sites/default/files/publications/Documents/TR2.pdf> Erişim tarihi: 23.02.2021.
- Azadbakht, M., & Talavaki, M. (2022). Qualitative and quantitative determination of pyrrolizidine alkaloids of wheat and flour contaminated with Senecio in Mazandaran Province farms. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 2, 179-183. doi:10.22037/ijpr.2010.50
- BfR. (2007). Nulltoleranzen in lebens- und futtermitteln. Positionspapier des BfR vom 12. [https://mobil.bfr.bund.de/cm/343/nulltoleranzen\\_in\\_lebens\\_und\\_futtermitteln.pdf](https://mobil.bfr.bund.de/cm/343/nulltoleranzen_in_lebens_und_futtermitteln.pdf) Erişim tarihi: 23.02.2021.
- BfR. (2011, Ağustos). Chemical analysis and toxicity of pyrrolizidine alkaloids and assessment of the health risks posed by their occurrence in honey, BfR opinion No. 038/2011.
- BfR. (2013, Temmuz). Pyrrolizidine alkaloids in herbal teas and teas, BfR Opinion No. 018/2013.
- BfR. (2016, Eylül). Pyrrolizidinealkaloids: Levels in foods should continue to be kept as low as possible. BfR Opinion No 030/2016. <https://mobil.bfr.bund.de/cm/349/pyrrolizidine-alkaloids-levels-in-foods-should-continue-to-be-kept-as-low-as-possible.pdf> Erişim tarihi: 23.02.2021.
- Bodi, D., Ronczka, S., Gottschalk, C., Behr, N., Skibba, A., Wagner, M., & These, A. (2014). Determination of pyrrolizidine alkaloids in tea, herbal drugs and honey. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 31, 1886-1895. doi:10.1080/19440049.2014.964337
- Bosi, C. F., Rosa, D. W., Grougnet, R., Lemonakis, N., Halabalaki, M., Skaltsounis, A. L., & Biavatti, M. W. (2013). Pyrrolizidine alkaloids in medicinal tea of *Ageratum conyzoides*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 23, 425-432. doi:10.1590/S0102-695X2013005000028
- Casado, N., Morante-Zarcelo, S., & Sierra, I. (2022). The concerning food safety issue of pyrrolizidine alkaloids: An overview. *Trends in Food Science & Technology*, 120, 123-139. doi:10.1016/j.tifs.2022.01.007
- Chen, Y., Li, L., Xiong, F., Xie, Y., Xiong, A., Wang, Z., & Yang, L. (2021). Rapid identification and determination of pyrrolizidine alkaloids in herbal and food samples via direct analysis in real-time mass spectrometry. *Food Chemistry*, 334, 127472. doi: 10.1016/j.foodchem.2020.127472
- Chung, S. W., & Lam, A. C. (2017). Investigation of pyrrolizidine alkaloids including their respective N-oxides in selected food products available in Hong Kong by liquid chromatography electrospray ionisation mass spectrometry. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 34, 1184-1192. doi:10.1080/19440049.2017.1319579
- Chung, S. W., & Lam, C. H. (2018). Development of an analytical method for analyzing pyrrolizidine alkaloids in different groups of food by UPLC-MS/MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66, 3009-3018. doi:10.1021/acs.jafc.7b06118
- Colegate, S. M., Upton, R., Gardner, D. R., Panter, K. E., & Betz, J. M. (2018). Potentially toxic pyrrolizidine alkaloids in *Eupatorium perfoliatum* and three related species. Implications for herbal use as boneset. *Phytochemical Analysis*, 29, 613-626. doi:10.1002/pca.2775

- COT. (Committee in Toxicity of Chemicals in Food, Consumer, Products and the Environment). (2008). Statement on pyrrolizidine alkaloids in food. <https://cot.food.gov.uk/sites/default/files/cot/cotstatementpa200806.pdf> Erişim tarihi: 23.02.2021.
- Cramer, L., & Beuerle, T. (2012). Detection and quantification of pyrrolizidine alkaloids in antibacterial medical honeys. *Planta Medica*, 78, 1976-1982. doi:10.1055/s-0032-1327900
- Cramer, L., Schiebel, H. M., Ernst, L., & Beuerle, T. (2013). Pyrrolizidine alkaloids in the food chain: development, validation, and application of a new HPLC-ESI-MS/MS sum parameter method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61, 11382-11391. doi:10.1021/jf403647u
- Diaz, G. J., Almeida, L. X., & Gardner, D. R. (2014). Effects of dietary *Crotalaria pallida* seeds on the health and performance of laying hens and evaluation of residues in eggs. *Research in Veterinary Science*, 97, 297-303. doi:10.1016/j.rvsc.2014.06.011
- Dusemund, B., Nowak, N., Sommerfeld, C., Lindtner, O., Schäfer, B., & Lampen, A. (2018). Risk assessment of pyrrolizidine alkaloids in food of plant and animal origin. *Food and Chemical Toxicology*, 115, 63-72. doi:10.1016/j.fct.2018.03.005
- Dübecke, A., Beckh, G., & Lüllmann, C. (2011). Pyrrolizidine alkaloids in honey and bee pollen. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 28, 348-358. doi:10.1080/19440049.2010.541594
- Edgar, J. A., & Smith, L. W. (2000). Transfer of pyrrolizidine alkaloids into eggs: Food safety implications. In A. T. Tu, & W. Gaffield (Eds.), *Natural and Selected Synthetic Toxins*, 745, 118-128. doi:10.1021/bk-2000-0745.ch008
- Edgar, J. A., Molyneux, R. J., & Colegate, S. M. (2015). Pyrrolizidine alkaloids: potential role in the etiology of cancers, pulmonary hypertension, congenital anomalies, and liver disease. *Chemical Research in Toxicology*, 28, 4-20. doi:10.1021/tx500403t
- EFSA. (2007). Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM). 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. *The EFSA Journal*, 447, 1-51. doi:10.2903/j.efsa.2007.447
- EFSA. (2011). Scientific Opinion on Pyrrolizidine alkaloids in food and feed. *EFSA Journal*, 9, 1-134. doi:10.2903/j.efsa.2011.2406
- EFSA. (2016). Dietary exposure assessment to pyrrolizidine alkaloids in the European population. *EFSA Journal*, 14, 4572. doi:10.2903/j.efsa.2016.4572
- EFSA. (2017). Risks for human health related to the presence of pyrrolizidine alkaloids in honey, tea, herbal infusion and food supplements. *EFSA Journal*, 15, 4908. doi:10.2903/j.efsa.2017.4908
- EMA-European Medicines Agency. (2016). Public Statement on Contamination of herbal medicinal products/traditional herbal medicinal products with pyrrolizidine alkaloids – transitional recommendations for risk management and quality control. [https://www.ema.europa.eu/en/documents/public-statement/public-statement-contamination-herbal-medicinal-products/traditional-herbal-medicinal-products-pyrrolizidine-alkaloids\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/public-statement/public-statement-contamination-herbal-medicinal-products/traditional-herbal-medicinal-products-pyrrolizidine-alkaloids_en.pdf) Erişim tarihi: 23.02.2021.
- Griffin, C. T., Danaher, M., Elliott, C. T., Kennedy, D. G., & Furey, A. (2013). Detection of pyrrolizidine alkaloids in commercial honey using liquid chromatography-ion trap mass spectrometry. *Food Chemistry*, 136, 1577-1583. doi:10.1016/j.foodchem.2012.02.112
- Griffin, C. T., Gosetto, F., Danaher, M., Sabatini, S., & Furey, A. (2014). Investigation of targeted pyrrolizidine alkaloids in traditional Chinese medicines and selected herbal teas sourced in Ireland using LC-ESI-MS/MS. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 31, 940-961. doi:10.1080/19440049.2014.900193
- Griffin, C. T., O'Mahony, J., Danaher, M., & Furey, A. (2015). Liquid chromatography tandem mass spectrometry detection of targeted pyrrolizidine alkaloids in honeys purchased within Ireland. *Food Analytical Methods*, 8, 18-31. doi:10.1007/s12161-014-9855-1
- He, Y., Zhu, L., Ma, J., Wong, L., Zhao, Z., Ye, Y., & Lin, G. (2020). Comprehensive investigation and risk study on pyrrolizidine alkaloid contamination in Chinese retail honey. *Environmental Pollution*, 267, 115542. doi:10.1016/j.envpol.2020.115542
- Hoogenboom, L. A. P., Mulder, P. P., Zeilmaker, M. J., Van den Top, H. J., Rimmelink, G. J., Brandon, E. F., & Van Egmond, H. P. (2011). Carry-over of pyrrolizidine alkaloids from feed

- to milk in dairy cows. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 28, 359-372. doi:10.1080/19440049.2010.547521
- Huybrechts, B., & Callebaut, A. (2015). Pyrrolizidine alkaloids in food and feed on the Belgian market. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 32, 1939-1951. doi:10.1080/19440049.2015.1086821
- Izcara, S., Casado, N., Morante-Zarzero, S., & Sierra, I. (2020). A miniaturized QuEChERS method combined with ultrahigh liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry for the analysis of pyrrolizidine alkaloids in oregano samples. *Foods*, 9, 1319. doi:10.3390/foods9091319
- Kaczyński, P., & Łozowicka, B. (2020). A novel approach for fast and simple determination pyrrolizidine alkaloids in herbs by ultrasound-assisted dispersive solid phase extraction method coupled to liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 187, 113351. doi:10.1016/j.jpba.2020.113351
- Kaltner, F., Rychlik, M., Gareis, M., & Gottschalk, C. (2020). Occurrence and risk assessment of pyrrolizidine alkaloids in spices and culinary herbs from various geographical origins. *Toxins*, 12, 155. doi:10.3390/toxins12030155
- Kapp, T. (2017). Pyrrolizidine Alkaloids in Culinary Herbs Take Caution with Borage-Containing Herbal Mixes. *CVUA Stuttgart*. [https://www.ua-bw.de/pub/beitrag.asp?subid=1&Thema\\_ID=2&ID=2485&lang=EN&Pdf=No](https://www.ua-bw.de/pub/beitrag.asp?subid=1&Thema_ID=2&ID=2485&lang=EN&Pdf=No) Erişim tarihi: 23.06.2023.
- Kast, C., Dübecke, A., Kilchenmann, V., Bieri, K., Böhlen, M., Zoller, O., & Lüllmann, C. (2014). Analysis of Swiss honeys for pyrrolizidine alkaloids. *Journal of Apicultural Research*, 53, 75-83. doi:10.3896/IBRA.1.53.1.07
- Kempf, M., Wittig, M., Schönfeld, K., Cramer, L., Schreier, P., & Beuerle, T. (2011). Pyrrolizidine alkaloids in food: downstream contamination in the food chain caused by honey and pollen. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 28, 325-331. doi:10.1080/19440049.2010.521771
- Kowalczyk, E., Sieradzki, Z., & Kwiatek, K. (2018). Determination of pyrrolizidine alkaloids in honey with sensitive gas chromatography-mass spectrometry method. *Food Analytical Methods*, 11, 1345-1355. doi:10.1007/s12161-017-1115-8
- Kräuterbeschluss. (2001). *Besluit van 19 januari 2001, houdende vaststelling van het Warenwetbesluit Kruidenpreparaten*. Staatsblad van het Koninkrijk der Nederlanden. <https://zoek.officielebekendmakingen.nl/stb-2001-56.html> Erişim tarihi: 11.03.2023.
- Letsyo, E., Jerz, G., Winterhalter, P., Dübecke, A., von der Ohe, W., von der Ohe, K., & Beuerle, T. (2017). Pyrrolizidine alkaloids in floral honeys of tropical Ghana: a health risk assessment. *Food Additives & Contaminants: Part B*, 10, 300-310. doi:10.1080/19393210.2017.1354336
- Letsyo, E., Adams, Z. S., Dzikuunoo, J., & Asante-Donyinah, D. (2021). Uptake and accumulation of pyrrolizidine alkaloids in the tissues of maize (*Zea mays* L.) plants from the soil of a 4-year-old *Chromolaena odorata* dominated fallow farmland. *Chemosphere*, 270, 128669. doi:10.1016/j.chemosphere.2020.128669
- Ma, C., Liu, Y., Zhu, L., Ji, H., Song, X., Guo, H., & Yi, T. (2018). Determination and regulation of hepatotoxic pyrrolizidine alkaloids in food: A critical review of recent research. *Food and Chemical Toxicology*, 119, 50-60. doi:10.1016/j.fct.2018.05.037
- Martinello, M., Cristofoli, C., Gallina, A., & Mutinelli, F. (2014). Easy and rapid method for the quantitative determination of pyrrolizidine alkaloids in honey by ultra performance liquid chromatography-mass spectrometry: An evaluation in commercial honey. *Food Control*, 37, 146-152. doi:10.1016/j.foodcont.2013.09.037
- Merz, K. H., & Schrenk, D. (2016). Interim relative potency factors for the toxicological risk assessment of pyrrolizidine alkaloids in food and herbal medicines. *Toxicology Letters*, 263, 44-57. doi:10.1016/j.toxlet.2016.05.002
- Moreira, R., Pereira, D. M., Valentão, P., & Andrade, P. B. (2018). Pyrrolizidine alkaloids: chemistry, pharmacology, toxicology and food safety. *International Journal of Molecular Sciences*, 19, 1668. doi:10.3390/ijms19061668



- Mudge, E. M., Jones, A. M. P., & Brown, P. N. (2015). Quantification of pyrrolizidine alkaloids in North American plants and honey by LC-MS: Single laboratory validation. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 32, 2068-2074. doi:10.1080/19440049.2015.1099743
- Mulder, P. P., Sánchez, P. L., These, A., Preiss-Weigert, A., & Castellari, M. (2015). Occurrence of pyrrolizidine alkaloids in food. *EFSA Supporting Publications*, 12, 859E. doi:10.2903/sp.efsa.2015.EN-859
- Mulder, P. P., de Witte, S. L., Stoop, G. M., van der Meulen, J., van Wikselaar, P. G., Gruys, E., & Hoogenboom, R. L. (2016). Transfer of pyrrolizidine alkaloids from various herbs to eggs and meat in laying hens. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 33, 1826-1839. doi:10.1080/19440049.2016.1241430
- Mulder, P. P., López, P., Castellari, M., Bodi, D., Ronczka, S., Preiss-Weigert, A., & These, A. (2018). Occurrence of pyrrolizidine alkaloids in animal-and plant-derived food: results of a survey across Europe. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 35, 118-133. doi:10.1080/19440049.2017.1382726
- Nowak, M., Wittke, C., Lederer, I., Klier, B., Kleinwächter, M., & Selmar, D. (2016). Interspecific transfer of pyrrolizidine alkaloids: An unconsidered source of contaminations of phytopharmaceuticals and plant derived commodities. *Food Chemistry*, 213, 163-168. doi:10.1016/j.foodchem.2016.06.069
- Nowak, M., Yahyazadeh, M., Lewerenz, L., & Selmar, D. (2017). Horizontal Natural Product Transfer: A so Far Unconsidered Source of Contamination of Medicinal Plants. *Medicinal Plants and Environmental Challenges*, 215-225. doi: 10.1007/978-3-319-68717-9\_12
- Orantes-Bermejo, F. J., Serra Bonvehí, J., Gómez-Pajuelo, A., Megías, M., & Torres, C. (2013). Pyrrolizidine alkaloids: their occurrence in Spanish honey collected from purple viper's bugloss (*Echium* spp.). *Food Additives & Contaminants: Part A*, 30, 1799-1806. doi:10.1080/19440049.2013.817686
- RASFF. (2020). Food and Feed Safety Alerts. <https://webgate.ec.europa.eu/rasff-window/screen/search> Erişim tarihi: 08.08.2023.
- RASFF. (2023). Food and Feed Safety Alerts. <https://webgate.ec.europa.eu/rasff-window/screen/search> Erişim tarihi:11.03.2023.
- RIVM. (Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu). (2005). Adequate limit value for pyrrolizidine alkaloids in herbal tea and herbal preparations. <https://www.rivm.nl/en/news/adequate-limit-value-for-pyrrolizidine-alkaloids-in-herbal-tea-and-herbal-preparations> Erişim tarihi:11.03.2023.
- Picron, J. F. (2018). Pyrrolizidine alkaloids in herbs and related foodstuffs (PASHERBS). <https://www.sciensano.be/en/biblio/pyrrolizidine-alkaloids-herbs-and-related-foodstuffs-pasherbs> Erişim tarihi: 23.02.2021.
- Picron, J. F., Herman, M., Van Hoeck, E., & Gosciny, S. (2018). Analytical strategies for the determination of pyrrolizidine alkaloids in plant based food and examination of the transfer rate during the infusion process. *Food Chemistry*, 266, 514-523. doi:10.1016/j.foodchem.2018.06.055
- Picron, J. F. (2019). *Pyrrolizidine alkaloids in food... the good, the bad and the ugly !* Labinfo Annual Newsletter-N°18, <https://www.sciensano.be/en/biblio/pyrrolizidine-alkaloids-food-good-bad-and-ugly> Erişim tarihi:11.03.2023.
- Picron, J. F., Herman, M., Van Hoeck, E., & Gosciny, S. (2020). Monitoring of pyrrolizidine alkaloids in beehive products and derivatives on the Belgian market. *Environmental Science and Pollution Research*, 27, 5693-5708. doi:10.1007/s11356-019-04499-2
- Schrenk, D., Gao, L., Lin, G., Mahony, C., Mulder, P. P., Peijnenburg, A., & These, A. (2020). Pyrrolizidine alkaloids in food and phytomedicine: Occurrence, exposure, toxicity, mechanisms, and risk assessment-A review. *Food and Chemical Toxicology*, 136, 111107. doi:10.1016/j.fct.2019.111107
- Selmar, D., Wittke, C., Beck-von Wolfersdorff, I., Klier, B., Lewerenz, L. & Kleinwächter, M. (2019). Transfer of pyrrolizidine alkaloids between living plants: A disregarded source of contaminations. *Environmental Pollution*, 248, 456-461. doi:10.1016/j.envpol.2019.02.026
- Stegelmeier, B. L., Colegate, S. M., & Brown, A. W. (2016). Dehydropyrrolizidine alkaloid toxicity, cytotoxicity, and carcinogenicity. *Toxins*, 8, 356. doi:10.3390/toxins8120356



- The European Commission. (2023). *Commission Regulation (EU) 2023/915 of 25 April 2023 on maximum levels for certain contaminants in food and repealing Regulation (EC) No 1881/2006*. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=celex%3A32023R0915>  
Erişin tarihi: 26.03.2023.
- Vaclavik, L., Krynitsky, A. J., & Rader, J. I. (2014). Targeted analysis of multiple pharmaceuticals, plant toxins and other secondary metabolites in herbal dietary supplements by ultra-high performance liquid chromatography–quadrupole-orbital ion trap mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 810, 45-60. doi:10.1016/j.aca.2013.12.006
- Valese, A. C., Molognoni, L., de Sá Ploêncio, L. A., de Lima, F. G., Gonzaga, L. V., Górniak, S. L., & Costa, A. C. O. (2016). A fast and simple LC-ESI-MS/MS method for detecting pyrrolizidine alkaloids in honey with full validation and measurement uncertainty. *Food Control*, 67, 183-191. doi:10.1016/j.foodcont.2016.02.050
- Van Wyk, B. E., Stander, M. A., & Long, H. S. (2017). Senecio angustifolius as the major source of pyrrolizidine alkaloid contamination of rooibos tea (*Aspalathus linearis*). *South African Journal of Botany*, 110, 124-131. doi:10.1016/j.sajb.2017.01.013
- Xu, J., Wang, W., Yang, X., Xiong, A., Yang, L., & Wang, Z. (2019). Pyrrolizidine alkaloids: An update on their metabolism and hepatotoxicity mechanism. *Liver Research*, 3, 176-184. doi:10.1016/j.livres.2019.11.004
- Yoon, S. H., Kim, M. S., Kim, S. H., Park, H. M., Pyo, H., Lee, Y. M., ..., & Hong, J. (2015). Effective application of freezing lipid precipitation and SCX-SPE for determination of pyrrolizidine alkaloids in high lipid foodstuffs by LC-ESI-MS/MS. *Journal of Chromatography B*, 992, 56-66. doi:10.1016/j.jchromb.2015.04.007
- Zhu, L., Xue, J., Xia, Q., Fu, P. P., & Lin, G. (2017). The long persistence of pyrrolizidine alkaloid-derived DNA adducts in vivo: Kinetic study following single and multiple exposures in male ICR mice. *Archives of Toxicology*, 91, 949-965. doi:10.1007/s00204-016-1713-z
- Zhu, L., Wang, Z., Wong, L., He, Y., Zhao, Z., Ye, Y., & Lin, G. (2018). Contamination of hepatotoxic pyrrolizidine alkaloids in retail honey in China. *Food Control*, 85, 484-494. doi:10.1016/j.foodcont.2017.10.026