

Convegno «Senecio sudafricano»
San Colombo di Barisiano (2014)

Miele ed alcaloidi pirrolizidinici: presenza, diffusione e rischio

Albino Gallina

agallina@izsvenezie.it



RESIDUI NEL MIELE

- Metalli pesanti
- Radionuclidi
- Tossine vegetali
- Pesticidi
- Diossine – PCB
- IPA
- ...

Amigdalina: mandorlo

Graianotossine: rododendro e alloro

Alcaloidi pirrolizidinici: Boraginaceae e Asteraceae

Alcaloidi benzofenantridinici: Papaveraceae

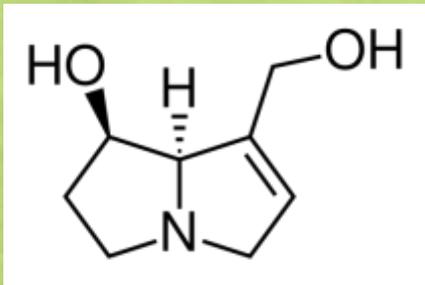
Nicotina: tabacco e tiglio

Caffeina: agrumi

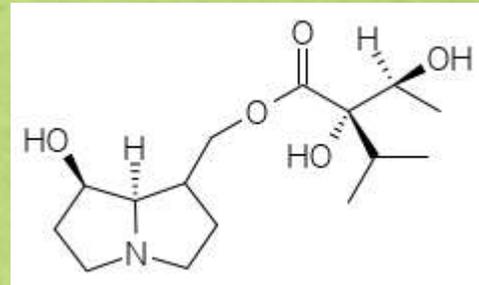
Gli alcaloidi pirrolizidinci

- Costituiscono una delle più importanti classi di contaminanti chimici naturali presenti nei prodotti alimentari
- Un numeroso gruppo di sostanze (>350) isolate da oltre 6000 specie botaniche.
- E' stato dimostrato che gli AP sono nella maggior parte dei casi tossici per l'organismo (principalmente per il fegato) e molti sono cancerogeni per gli animali e potenzialmente anche per l'uomo
- La denuncia del rischio per la salute pubblica costituito dagli AP come possibili contaminanti delle derrate alimentari non è nuovo. Le prime segnalazioni nel 1988 in Afghanistan, India e Uzbekistan (OMS).

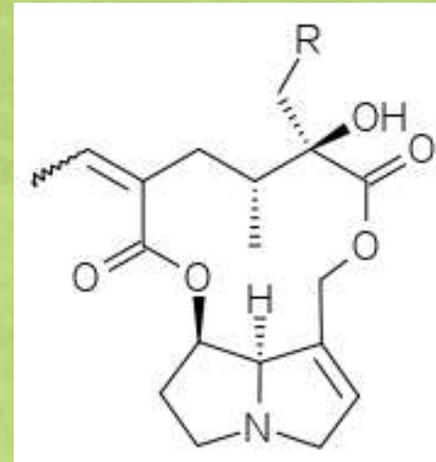
Strutture chimiche



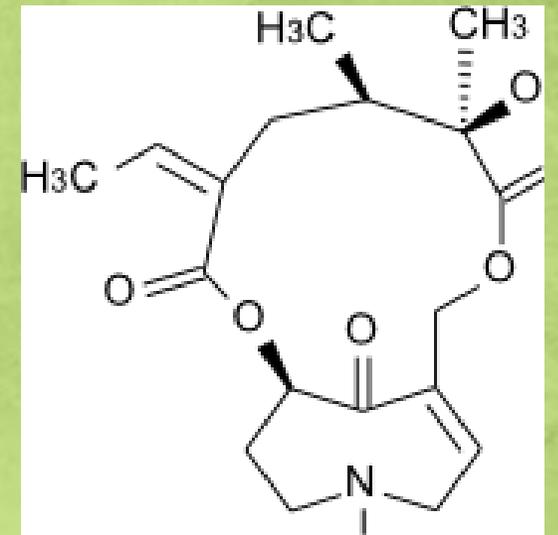
Retronecina



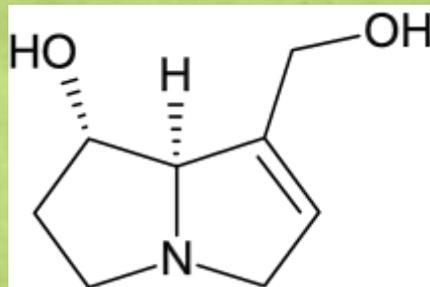
Licosamina



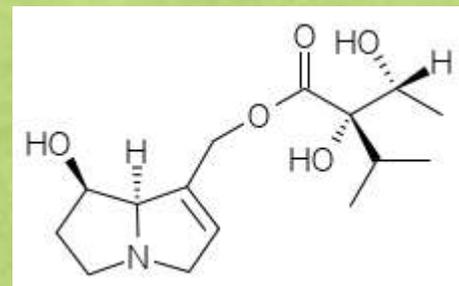
Senecionina (H)
Retrorsina (OH)



Senkirkina



Eliotridina



Intermedina

Piante produttrici di alcaloidi pirrolizidinici

- Boraginaceae,
- Senecioneae
- Eupatorieae
- Leguminosae (Crotalaria)



Sono principalmente piante erbacee, ampiamente distribuite in natura e si stima ammontino ad oltre 6000 specie, circa il 3% delle piante fiorite mondiali

- Molte specie devono la loro larga diffusione anche all'uomo, per essere state deliberatamente coltivate come erbe medicinali o piante decorative nei giardini, o inavvertitamente introdotte in nuovi habitat come piante infestanti. Spesso le condizioni climatiche ed ambientali favorevoli e la mancanza di naturali competitori ne hanno determinato una larghissima diffusione, con una densità di piante in alcune aree di importazione addirittura superiore rispetto ai territori di origine, a discapito di più benigne specie autoctone.

In quale parte della pianta si trovano e in quali quantità?

- Il pattern di AP presenti nelle diverse piante produttrici, varia significativamente a seconda della specie, delle condizioni climatiche, del periodo di raccolta e della parte della pianta analizzata
- Gli AP sono composti secondari di difesa espressi costitutivamente dalle specie produttrici, che li sintetizzano e accumulano in varie parti della pianta.
- Nelle Asteraceae (*Senecio* spp. ed *Eupatorium* spp.) gli alcaloidi senecionina-simili sono principalmente sintetizzati nelle radici, distribuiti lungo le fibre in tutta la pianta.
- Nel genere *Senecio* gli AP (principalmente esteri macrociclici) possono raggiungere il 18% del peso secco della pianta : vengono accumulati per la maggior parte nelle infiorescenze ed ivi conservati.

Patologie correlate al consumo di alcaloidi pirrolizidinici e modelli animali

- Gli AP sono le più diffuse tossine costituenti un serio pericolo per la salute degli animali selvatici ed allevati (EFSA, 2007).
- Sono risultati tossici in tutte le specie animali saggiate, fatta eccezione per alcuni ruminanti (come la pecora) che, per il metabolismo degli AP, sfruttano particolari meccanismi di detossificazione del rumine.
- I primi casi di intossicazione da AP sono stati riscontrati nel bestiame già agli inizi del novecento (epatotossicità acuta e cronica). Dovuta all'assunzione in massicce quantità di AP contenuti in alcune specie erbacee infestanti diffuse nei pascoli spesso in seguito a forti periodi di siccità.
- Intossicazioni acute da AP nell'uomo possono insorgere in seguito ad assunzione di alte concentrazioni di AP; un quadro di intossicazione cronica può invece insorgere in seguito al consumo continuativo di "rimedi naturali" (tisane o estratti) o integratori alimentari a base di piante produttrici di AP, oppure all'assunzione continuativa di AP contenuti in tracce in alimenti come uova, carne, latte o miele.

Pianta, alcaloidi pirrolizidinici e DL₅₀

ALCALOIDI PIRROLIZIDINICI	DL ₅₀ (mg/kg)	RELATIVE PIANTE PRODUTTRICI appartenenti alla flora Italiana
Retrorsina	36	Senecio cineraria DC., S. erucifolius L., S. inaequidens DC. , S. jacobaea L., S. vulgaris L.
Senecionina	50	Petasites hybridus L., Senecio cineraria DC., S. erraticus B., S. erucifolius L., S. inaequidens DC. , S. jacobaea L., S. nemorensis L., S. petasitis DC., S. squalidus L., S. subalpinus C., S. viscosus L., S. vulgaris L., Tussilago farfara
Eliotrina	296	Heliotropium curassavicum Linn., H. europaeum L., H. supinum
Licopsamina	>1000	Anchusa officinalis, Borago officinalis L., Symphytum asperum Lepech., S. officinale Linn.,

Il miele come prodotto delle api: contaminazione da alcaloidi pirrolizidinici

- Le api raccolgono sia polline che nettare.
- La contaminazione del nettare col polline (e di conseguenza anche del miele) può avvenire quindi in diversi momenti, dalla raccolta alla deposizione del nettare nei favi.
- il polline di piante produttrici di AP contiene concentrazioni piuttosto elevate di queste sostanze (6-14.000 µg/g)
- il nettare non sembra contenere AP.
- *Apis mellifera* non sembra essere soggetta ad intossicazione da AP.

Contaminazione del miele da alcaloidi pirrolizidinici: casi riportati in letteratura

- Tra gli alimenti che possono contenere AP in tracce, il miele è stato senza dubbio uno di quelli più studiati negli ultimi anni
- In mieli australiani di *Echium* spp. sono state riscontrate concentrazioni di AP fino a 1mg/kg (ANZFA, 2001).
- Analogamente negli Stati Uniti per quanto riguarda mieli di *Senecio jacobaea* contaminati da AP (Deinzer M. L. et al. 1977).
- E' stato recentemente pubblicato uno studio relativo all'analisi di mieli prelevati casualmente nei supermercati della Germania e del resto d'Europa. Dei mieli analizzati, non selezionati in base ad una particolare origine geografica o fonte nettarifera prevalente, il 9% è risultato positivo per AP in un intervallo di concentrazioni da 0,041 a 0,259 µg/g, con un valore medio di 0,1 µg/g (concentrazioni espresse in equivalenti di senecionina).

Normative europee ed extra-europee in materia di alcaloidi pirrolizidinici: stato dell'arte

- Non esiste una normativa comunitaria.
- Germania.
 - Dal 1992 esiste un'ordinanza federale che regola la vendita di prodotti medicinali a base di piante produttrici di AP.
 - 1µg al giorno per un periodo massimo di assunzione orale di 6 settimane;
 - 100µg al giorno per uso esterno e per un periodo massimo di 6 settimane;
 - 0.1µg al giorno per più di 6 settimane consecutive di assunzione orale;
 - 10µg al giorno per uso esterno, per un massimo di 6 settimane consecutive.
 - Non eccedere 0.007 µg PAs/kg peso corporeo al giorno (corrispondente a 0.42 µg PAs al giorno per una persona di 60 kg)
- Austria
 - È consentita la vendita di poche piante o preparati a base di piante produttrici di AP. Tuttavia tali prodotti possono essere commercializzati solo previa analisi "condotta con le più recenti metodiche per l'analisi di AP disponibili in letteratura", e attestante la totale assenza di AP nel prodotto (tolleranza zero).
- Olanda.
 - Il contenuto totale di AP e di AP N-ossidi in questi prodotti non può superare 1µg/kg o 1µg/l, rispettivamente.
 - Per non incorrere in effetti cancerogeni ha stabilito un ADI (Acceptable Daily Intake) di 0,1µg/kg di peso corporeo al giorno.
- Australia e Nuova Zelanda.
 - NOEL (no-observed-effect level) di 10 µg/kg di peso corporeo al giorno e un ADI provvisorio di 1µg/kg di peso corporeo.

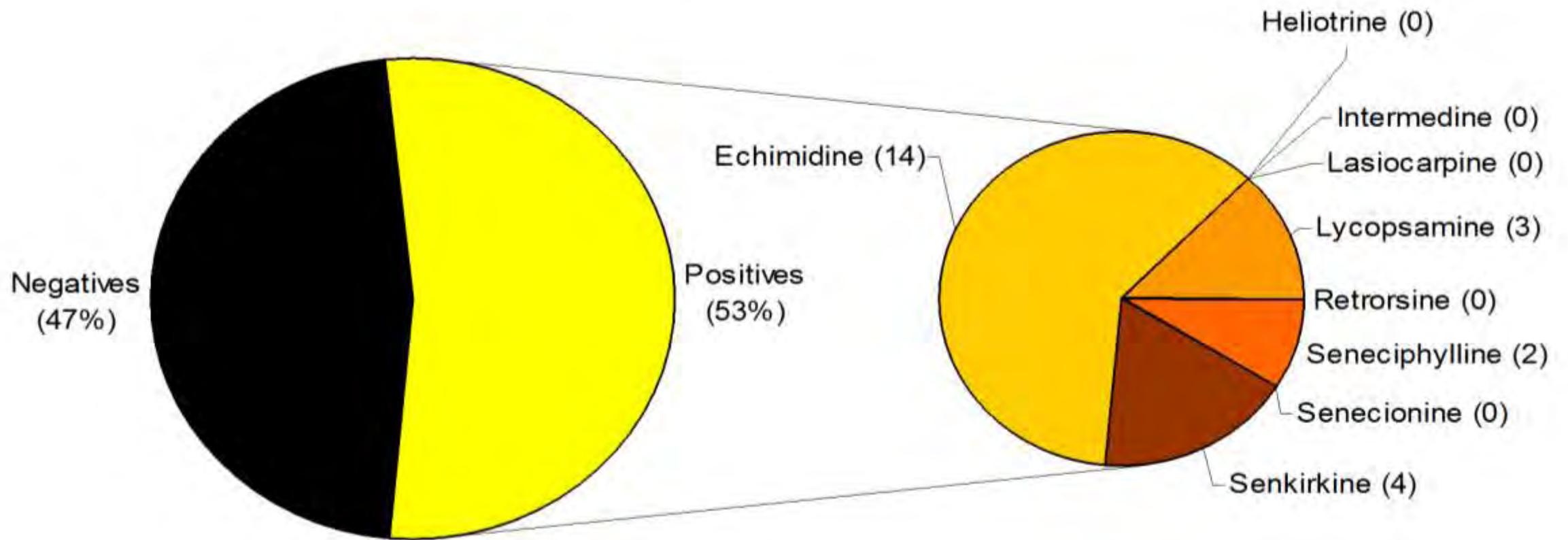
Un nostro studio

- 70 campioni di miele acquistati in supermercati locali
- Origine campioni:
 - 17 campioni di miele italiano
 - 22 miscele di mieli provenienti da paesi dell'Unione Europea
 - 31 miscele provenienti da paesi comunitari ed extra-comunitari

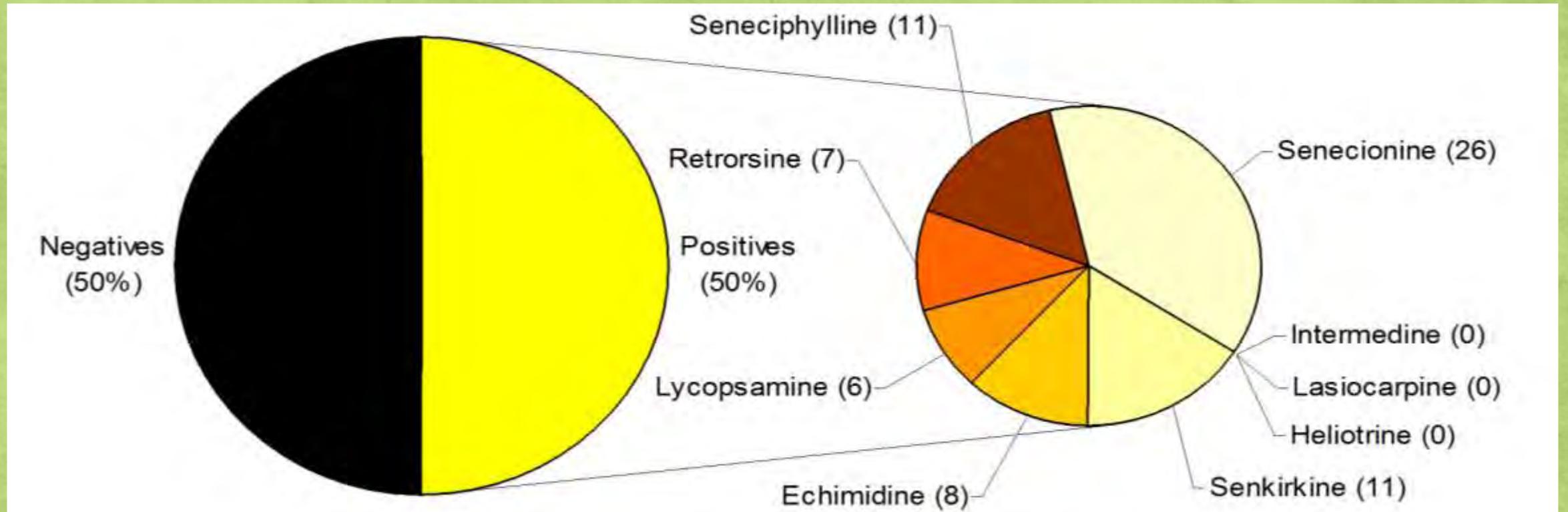
Metodo analitico

- 2,5 g di miele vengono sciolti in acido solforico (0.05 M) e sottoposti a riduzione con zinco metallico.
- Gli eventuali AP vengono estratti e purificati con la tecnica QuEChERS. e successivamente purificati.
- L'analisi strumentale viene svolta con UPLC-MS (Cromatografia liquida ad ultra alte prestazioni accoppiata con spettrometria di massa).
- I recuperi variano dal 67 al 100%.
- Il limite di rivelabilità va da 0.021 a 1.39 $\mu\text{g}/\text{kg}$.

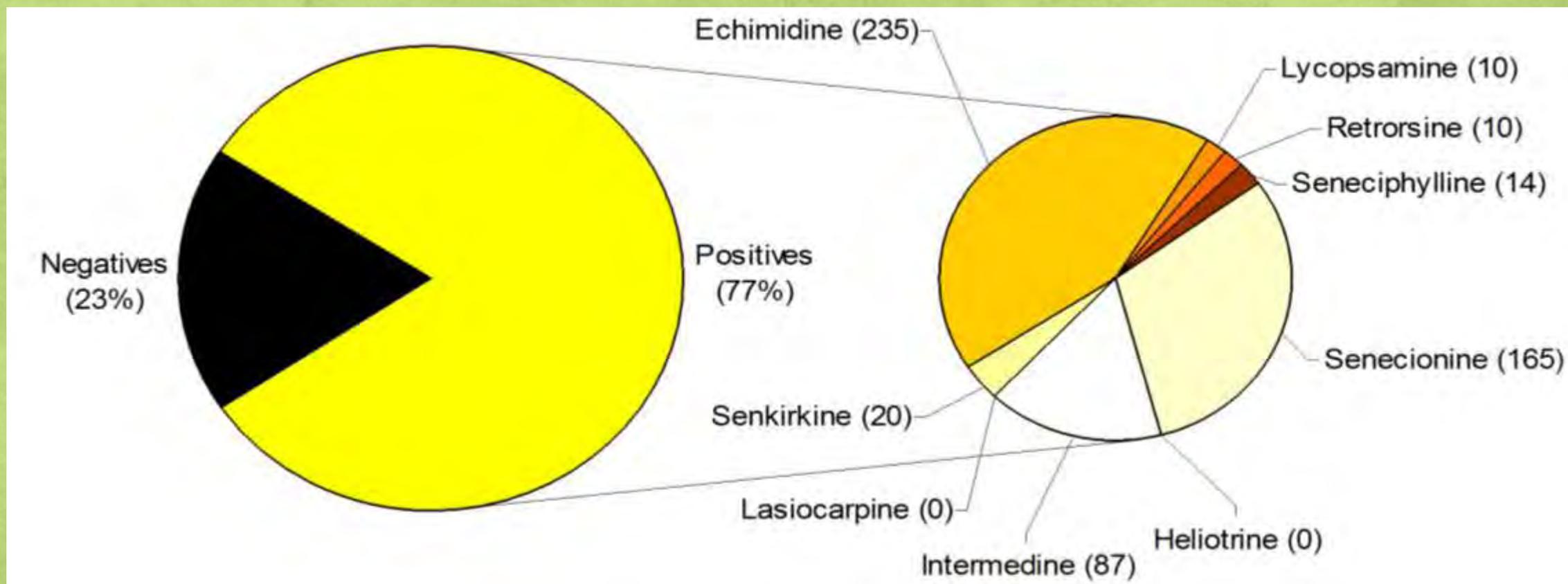
Mieli italiani



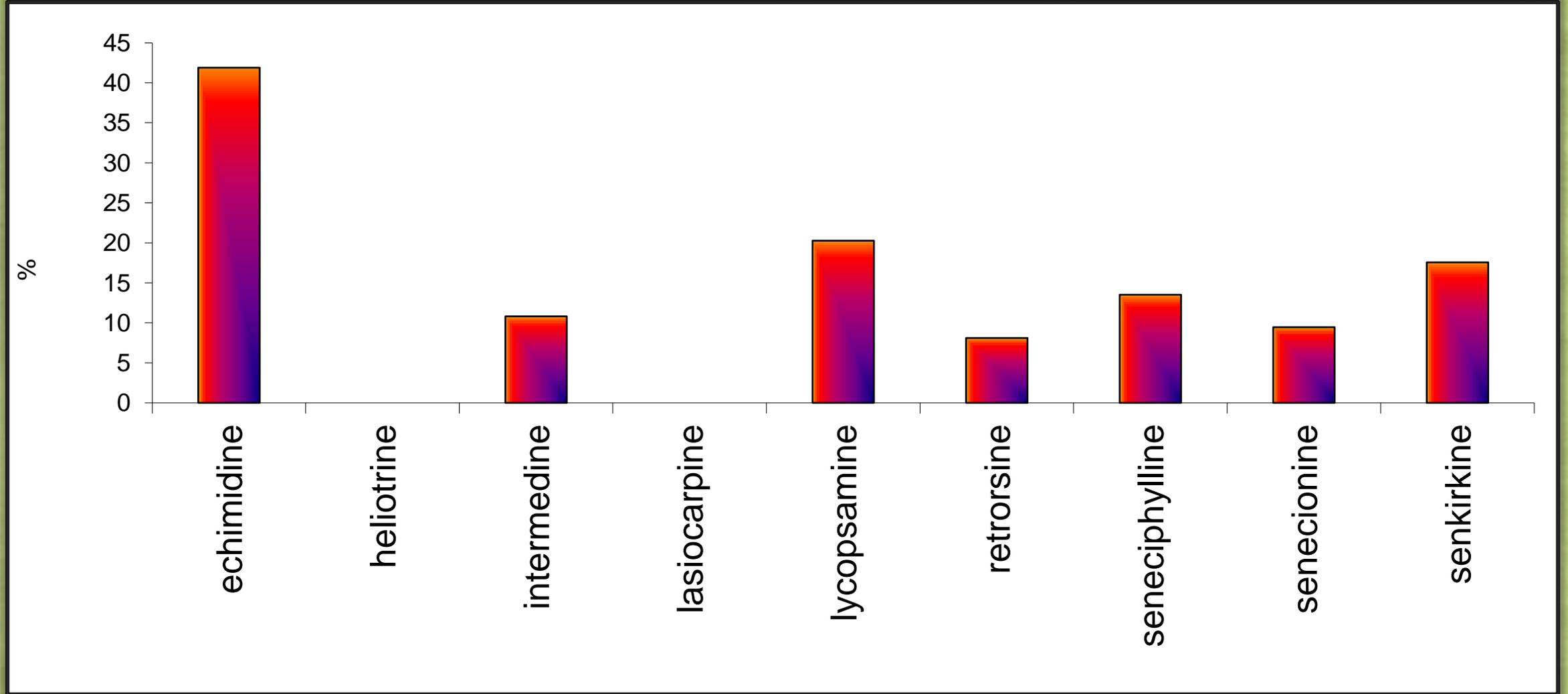
Miscele di mieli europei



Miscele di mieli EU e non EU



Distribuzione degli AP



Approfondimenti

- Scientific Opinion on Pyrrolizidine alkaloids in food and feed
- EFSA Journal 2011;9(11):2406 [134 pp.]
- <http://www.efsa.europa.eu/it/efsajournal/doc/2406.pdf>



agallina@izsvenezie.it



Grazie per l'attenzione