

Come finiscono gli alcaloidi pirrolizidinici dalla viperina azzurra al miele? Provengono dal nettare o dal polline?

Matteo Lucchetti

Agroscope, Centro di ricerche apicole, 3003 Berna

Circa il 3% di tutte le piante da fiore produce alcaloidi pirrolizidinici (AP). Da un lato, le piante contenenti AP come la viperina azzurra sono importanti fonti di cibo per varie api solitarie e sono quindi fondamentali per il nostro ecosistema. Dall'altro lato queste composti vegetali indesiderati possono finire nei prodotti alimentari e rappresentare un rischio per la salute dei consumatori (Mulder 2015; EFSA 2016).

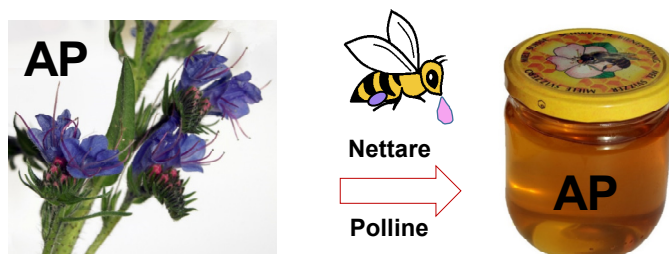


Illustrazione 1: quando le api mellifere raccolgono nettare e polline da piante contenenti AP, queste composti vegetali indesiderati possono finire nel miele.

Gli PA sono contenuti nel nettare o nel polline?

Lo scopo era individuare se gli AP nel miele provenissero dal nettare o dal polline dalle piante. Poiché il polline proveniente da alcune piante contenenti AP possiede concentrazioni di AP molto elevate, in studi precedenti si è ipotizzato che il polline fosse la principale fonte di AP nel miele (Boppré et al. 2011, Edgar et al. 2011). Il miele è tuttavia prodotto principalmente mediante la raccolta di nettare e contiene solo poche tracce di polline (meno dello 0,02%). Pertanto, anche il nettare è una probabile fonte di AP nel miele. Tuttavia, non era chiaro se e quali quantità di AP fossero presenti nel nettare. Per rispondere a questa domanda, abbiamo effettuato analisi relative al nettare e al polline delle piante.

La viperina azzurra come pianta di riferimento

Abbiamo scelto la viperina azzurra come pianta di riferimento siccome contiene AP, è molto diffusa in Europa ed è la principale responsabile della presenza di AP nel miele europeo (Dübecke et al. 2011; Kast et al. 2014; v. anche parte 1: Analisi degli alcaloidi pirrolizidinici nel miele svizzero).



Illustrazione 2: viperina azzurra (*Echium vulgare*).

Raccolta di campioni di nettare e polline

Abbiamo scelto due zone con un'elevata presenza della viperina azzurra nei pressi degli apiari: una nei pressi di Basilea e una in Ticino. Nei mesi di giugno e luglio 2013 e 2014, sono stati prelevati campioni di nettare e di polline nei pressi di questi apiari. Inoltre, uno o due giorni prima del prelievo, le piante sono state avvolte in una rete per evitare che le api o altri insetti ne prelevassero il nettare o il polline. Il nettare all'interno della corolla è stato raccolto con delle pipette mentre i pistilli dei fiori sono stati immersi in una soluzione per raccogliergli il polline.



Illustrazione 3: le piante sono state protette dagli insetti con una rete

Analisi della presenza di AP

I campioni di miele sono stati inviati al laboratorio QSI (Brema, Germania) per testare la presenza di PA. Il nettare e il polline sono stati analizzati all'Università di Neuchâtel.

Tenore totale di AP nel nettare rispetto al miele

Per definire la fonte principale di AP nel miele, abbiamo prima determinato il contenuto di AP nel nettare e poi confrontato con il tenore di AP nel miele. Nel nettare è stato determinato un contenuto medio di AP di 25 µg/kg (cfr. ill. 4), o 25 000 µg/kg per chilogrammo. Nei mieli

misti svizzeri abbiamo misurato un contenuto di AP fino a 162 µg/kg (vedi parte 1: Presenza di alcaloidi pirrolizidinici nel miele svizzero). Nei mieli esteri monoflorali prodotti a partire dalla viperina azzurra è stato misurato un tenore di AP fino a 2850 µg/kg (Betteridge et al., 2005). Il tenore di AP da noi misurato nel nettare è superiore ai livelli misurati nel miele. Di conseguenza, questi valori sono sufficienti per spiegare i livelli di AP determinati nel miele. Il nettare è dunque un'importante fonte di AP per il miele.

Tenore totale di AP nel polline rispetto al miele

Il polline conteneva un tenore di AP molto elevato (13 551 µg/g; cfr. ill. 4), circa 500 volte superiore a quello del nettare (25 µg/g). Un valore che sembra molto elevato di primo acchito. Tuttavia, nel miele vi sono solo tracce minime di polline. Le analisi dei sedimenti hanno dimostrato che il polline nel miele ha una proporzione minore di 1 su 5000. Gli AP del polline sono quindi fortemente diluiti nel miele. La quantità di polline contenuta nel miele è pertanto troppo piccola per poter aumentare significativamente il tenore di AP nel miele.

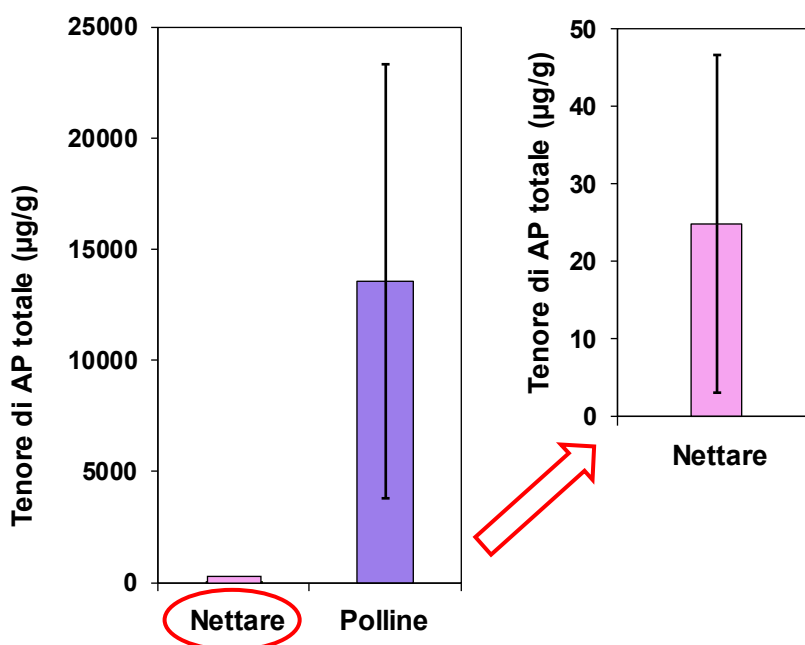


Illustrazione 4: il tenore di AP totale nel nettare (rosa) e nel polline (viola). Il livello medio di AP nel nettare era di 25 µg/g e di 13 551 µg/g nel polline. In totale sono stati analizzati 20 campioni di nettare e 14 di polline della zona di Basilea, e 16 campioni di nettare e 13 di polline provenienti dal Ticino.

Sottogruppi di AP nella viperina azzurra

La viperina contiene diversi sottogruppi di AP specifici del genere *Echium*. I sottogruppi principali sono l'echimidina (echimidina / +N-ossido) oppure l'echivulgarina (echivulgarina / +N-ossido).

Confronto del modello-AP del miele con il modello-AP di nettare e polline

In un secondo tempo, abbiamo analizzato i diversi sottogruppi di AP nella viperina azzurra. Il modello AP di nettare e polline è stato confrontato con il modello AP del miele. Nel miele, l'echimidina era il AP più importante (v. ill. 5, in turchese). Anche il nettare conteneva

principalmente echimidina. Il polline, tuttavia, ha mostrato un modello nettamente diverso rispetto al miele o al nettare. Nel polline è stata rilevata soprattutto l'echivulgarina (v. ill. 5, in rosso). Poiché miele e nettare hanno un modello simile, si può dedurre che il AP nel miele è derivato principalmente dal nettare.

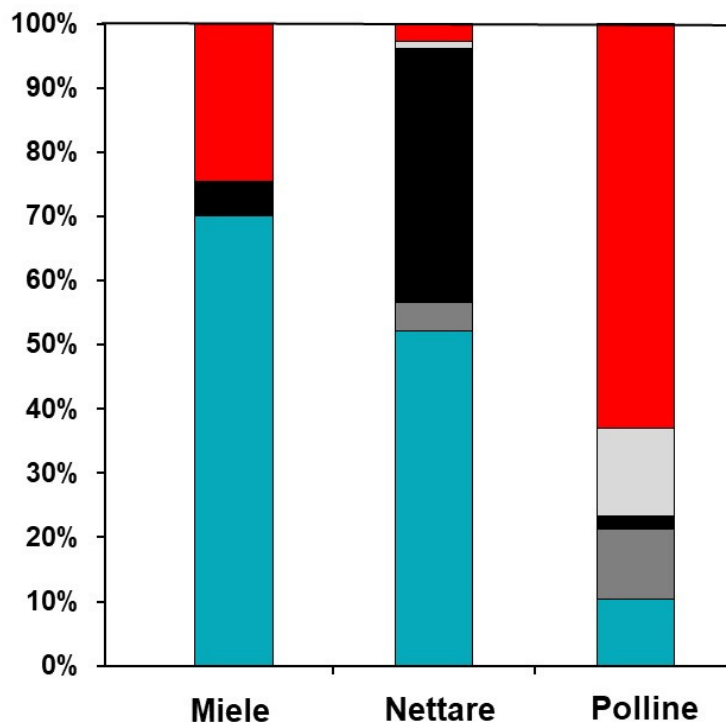


Illustrazione 5: modelli AP in miele, nettare e polline. Presenza di echimidina (turchese) ed echivulgarina (rosso). Altri sottogruppi di AP nella viperina azzurra in grigio chiaro, grigio scuro e nero. Nel nettare si osserva un modello simile a quello del miele, mentre il polline attesta un modello diverso.

Conclusioni

Il contenuto di AP nel nettare determina il contenuto di AP nel miele. La quantità di polline contenuta nel miele è troppo piccola per poter aumentare significativamente il tenore di AP nel miele. Inoltre, il profilo AP del miele è simile a quello del nettare e differisce notevolmente dal profilo del polline. I due studi dimostrano che nel miele la principale fonte di AP nella viperina azzurra è il nettare.

In passato, si era già ipotizzato di rimuovere il polline contenente AP dal miele mediante filtrazione in modo da ridurre il tenore di AP nel miele. Con questo studio ora siamo stati in grado di dimostrare che il polline contribuisce molto meno al carico di AP nel miele rispetto al nettare. Di conseguenza, la filtrazione del polline non riduce il tenore di AP nel miele. Poiché l'origine geografica e botanica del miele è determinata principalmente tramite il polline presente nel miele, sarebbe difficile filtrare il polline per eliminarlo dal miele.

Questo studio fa parte della mia tesi di dottorato. Sulle pubblicazioni scientifiche seguenti è possibile trovare maggiori informazioni:

Lucchetti MA, Glauser G, Kilchenmann V, Dübecke A, Beckh G, Praz C, Kast C. 2016. Pyrrolizidine alkaloids from *Echium vulgare* in honey originate primarily from floral nectar. J Agric Food Chem. 64: 5267–5273. (doi:10.1021/acs.jafc.6b02320)

Si trovano maggiori informazioni anche sul nostro sito internet: www.apis.admin.ch>Prodotti apistici>Miele>Sostanze nocive nel miele>Alcaloidi pirrolizidinici

Ringraziamento

Per questo studio ho ricevuto un sostegno per tesi di dottorato da parte di Agroscope. Ringrazio il Dr. C. Kast per l'accompagnamento scientifico di questo lavoro e i Dr. Christophe Praz e Dr. Gaetan Glauser per il sostegno nonché l'aiuto nel corso dei lavori di analisi per determinare il PA nel nettare e nel polline all'Università di Neuchâtel (Unine).

Altri riferimenti

Betteridge K, Cao Y, Colegate, SM. 2005. Improved method for extraction and LC-MS analysis of pyrrolizidine alkaloids and their N-oxides in honey: Application to *Echium vulgare* Honeys. J Agric Food Chem. 53(6): 1894-1902.
<http://dx.doi.org/10.1021/jf0480952>

Boppré M, Colegate SM, Edgar JA. 2005. Pyrrolizidine alkaloids of *Echium vulgare* honey found in pure pollen. J Agric Food Chem. 53: 594–600.

Dübecke A, Beckh G, Lüllmann C. 2011. Pyrrolizidine alkaloids in honey and bee pollen. Food Addit Contam Part A. 28 (3):348-358.

Edgar JA, Colegate SM, Boppré M, Molyneux RJ. 2011. Pyrrolizidine alkaloids in food: A spectrum of potential health consequences. Food Addit Contam Part A 28 (3): 308–324.

EFSA (European Food Safety Authority). 2016. Dietary exposure assessment to pyrrolizidine alkaloids in the European population. EFSA Journal 14 (8):4572.
<http://dx.doi.org/10.2903/j.efsa.2016.4572>

Kast C, Dübecke A, Kilchenmann V, Bieri K, Böhlen M, Zoller O, Beckh G, Lüllmann, C. 2014. Analysis of Swiss honeys for pyrrolizidine alkaloids. J Apicult Res 53 (1):75-83.

Mulder PPJ, López Sánchez P, These A, Preiss-Weigert A, Castellari M. 2015. Occurrence of Pyrrolizidine Alkaloids in food. EFSA supporting publication. EN-859:1-114.