

API E AMBIENTE

Il rischio alimentare monitorato dalle api

Prof. Carlo D'Ascenzi

SVETAP/Università di Pisa



Cortona, Giovedì 14 Dicembre 2023

Programma

Le interazioni delle api con l'ambiente

I pericoli chimici raccolti dalle api

I metalli pesanti (Pb e Cu)

Diossine e Policlorobifenili (PCB)

Alcaloidi pirrolizidinici

Le microplastiche

Le interazioni delle api con l'ambiente



Le interazioni delle api con l'ambiente

Le api dimostrano di interagire in modo molto intimo e pervasivo con l'ambiente che frequentano, al punto da rappresentare dei riferimenti affidabili nella sorveglianza di molti parametri ambientali.



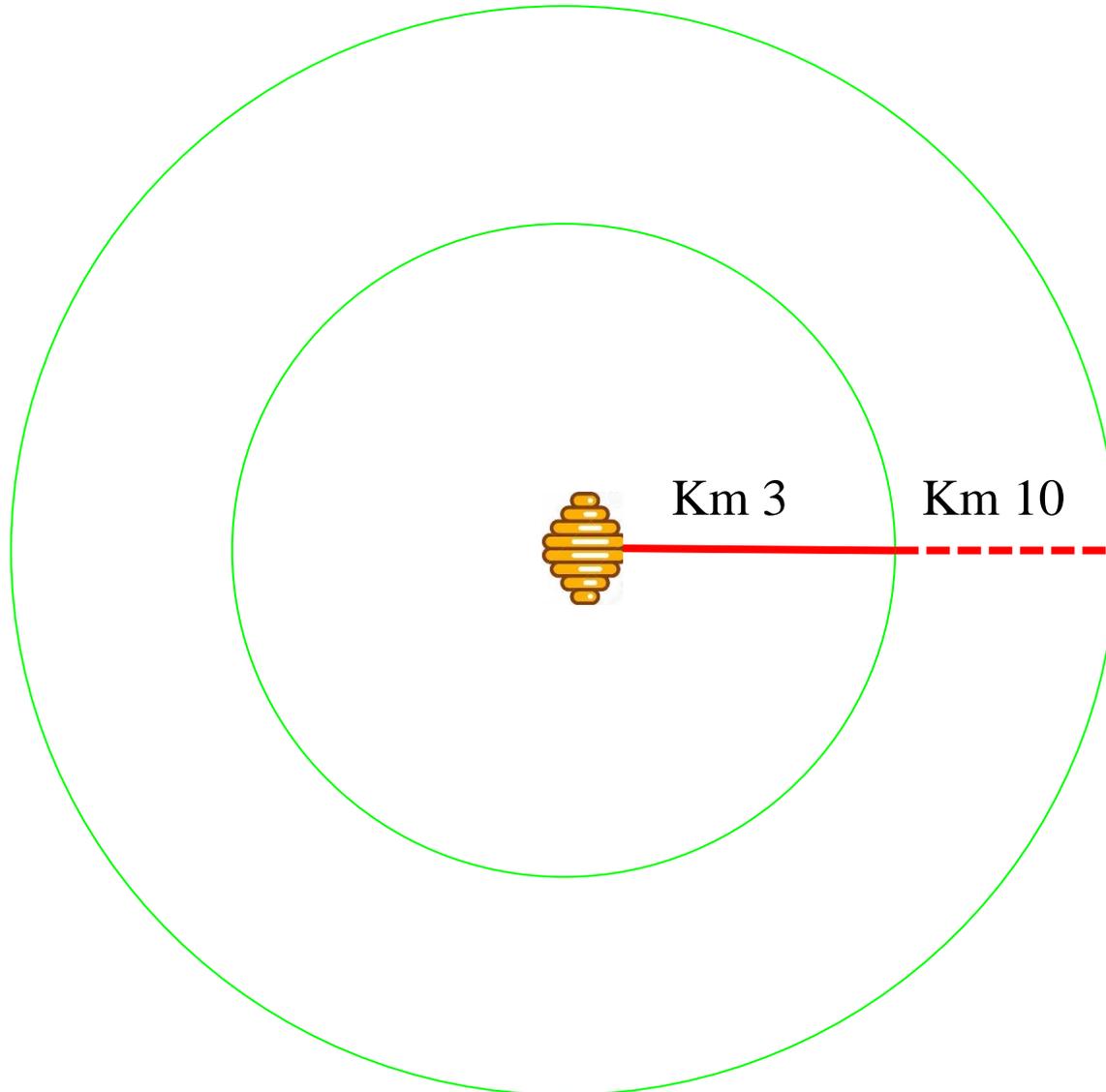
Le interazioni delle api con l'ambiente

I contaminanti ambientali possono raggiungere le api e le materie prime dei prodotti da loro elaborati (nettare, melata, polline, propoli, cera) attraverso l'aria, l'acqua, il suolo e le piante, ed in tal modo essere introdotti negli alveari.



Le interazioni delle api con l'ambiente

Home range delle api



Le interazioni delle api con l'ambiente

Le api come indicatori One Health

Il significato dei contaminanti che raccolgono nell'ambiente riguarda vari aspetti rilevanti ai fini della salute pubblica, quali la salute delle api, la sicurezza alimentare e la sicurezza dell'ambiente.



Le interazioni delle api con l'ambiente

Il rischio alimentare monitorato dalle api

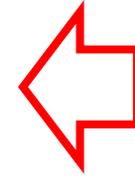
L'elenco dei principali contaminanti ambientali, di cui i prodotti dell'apicoltura rappresentano efficaci indicatori ed al tempo stesso veicoli alimentari per l'uomo, include, oltre i pesticidi, metalli pesanti (Pb, Cd, Hg, Cu, As, Sn), bifenili policlorurati (PCB) e diossine, idrocarburi policiclici aromatici (IPA), isotopi radioattivi, fitotossine, sostanze perfluoroalchiliche (PFAS).



Le interazioni delle api con l'ambiente

Cause dei cambiamenti climatici

Interventi dell'apicoltore

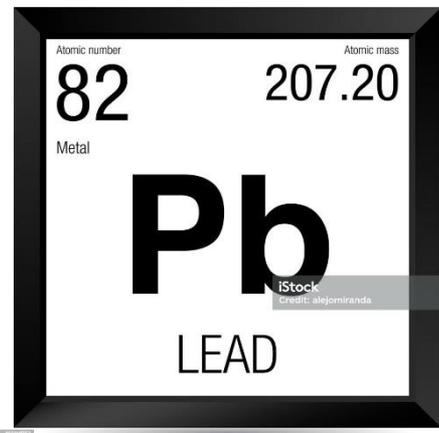


Polluzione ambientale



Effetti dei cambiamenti climatici

I metalli pesanti (Pb, Cd, Hg, Cu, As, St)



I metalli pesanti

Origine dei metalli pesanti

Tra i contaminanti ambientali, i metalli pesanti rivestono un ruolo di primaria importanza. Alcuni di questi sono presenti naturalmente nell'ambiente, altri sono introdotti nell'ecosistema come conseguenza di attività agricole o industriali, quali il trasporto auto veicolare, l'incenerimento dei rifiuti, la combustione di carburanti e di lubrificanti, ecc.



I metalli pesanti

Tossicità per le api

Ci sono evidenze che cadmio, **rame e piombo** si bioaccumulano in *Apis mellifera*, sia negli adulti che nelle larve, così come nelle riserve di miele, cera e propoli. Questi metalli hanno significativi effetti negativi sulla salute e sulla sopravvivenza delle api.



I metalli pesanti

Esposizione del miele alla contaminazione da Pb

È un contaminante ambientale naturale, ma il suo largo uso in passato ha aumentato la sua presenza, fino a livelli critici. Si accumula nell'organismo, con particolare riferimento al sistema nervoso centrale, che è il principale organo bersaglio. Nel 2006 l'Agenzia internazionale per la ricerca sul cancro (IARC) ha classificato il Pb inorganico come **“probabilmente cancerogeno per l'uomo” (gruppo 2A)**.



I metalli pesanti

Esposizione del miele alla contaminazione da Pb

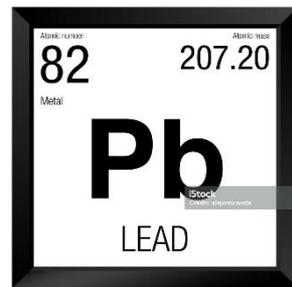


Table 11: Lead dietary exposure from honey in EU (from EFSA 2012b).

Food category	N	LC %	Occurrence (mg/kg)						Consumers
			Mean			95 th percentile			N ^c
			MB	LB	UB	MB	LB	UB	
Honey	1,924	54	36	32	41	120	70	120	12,025
Honey, monofloral	72	61	16	12	19	70	70	70	711
Honey, polyfloral	182	69	22	16	29	64	64	80	233

N: number of samples; % LC: percentage of samples with concentrations below the limit of detection, considered 'left-censored' data; LB: lower bound; MB: middle bound; UB: upper bound; N^c: number of consumption occasions.

Carlo D'Ascenzi, Giovanni Formato and Peter Martin. 2019. *Chemical hazards in honey*. In *Chemical hazards in foods of animal origin*, di Frans J.M. Smulders, Ivonne M.C.M. Rietjens and Martin Rose. Wageningen Academic.

Esposizione del miele alla contaminazione da Pb

Secondo EFSA l'esposizione al rischio vede una concentrazione di Pb nel miele caratterizzata da valori massimi di 2.140 µg/kg, con un 7% dei campioni caratterizzato da concentrazioni superiori a 100 µg/kg (EFSA 2012b)

L'EFSA ha identificato una dose di riferimento (BMDL₀₁) pari a 0,50 µg/kg di peso corporeo al giorno

Limite Massimo nel miele: mg/kg

3.1.17	Miele	0,10
--------	-------	------

(Regolamento UE 2023/915)

I metalli pesanti



Micronutriente essenziale:

Adequate Intakes (mg/day) (from EFSA 2015b)

infants 7–11 months	children 1 to < 3 years	children 3 to < 10 years	boys and girls 10 to < 18 years
0.4	0.7	1	1.1

ADI: 0.15 mg Cu/kg bw per day (EFSA, 2008)

I metalli pesanti

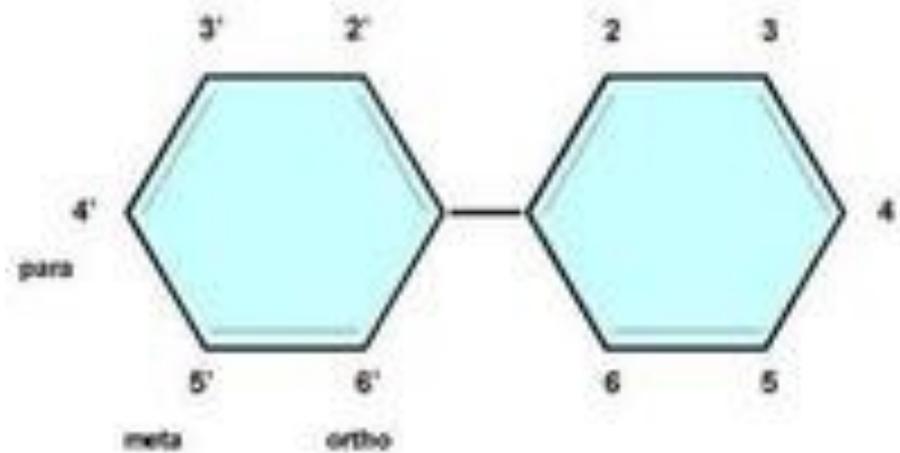
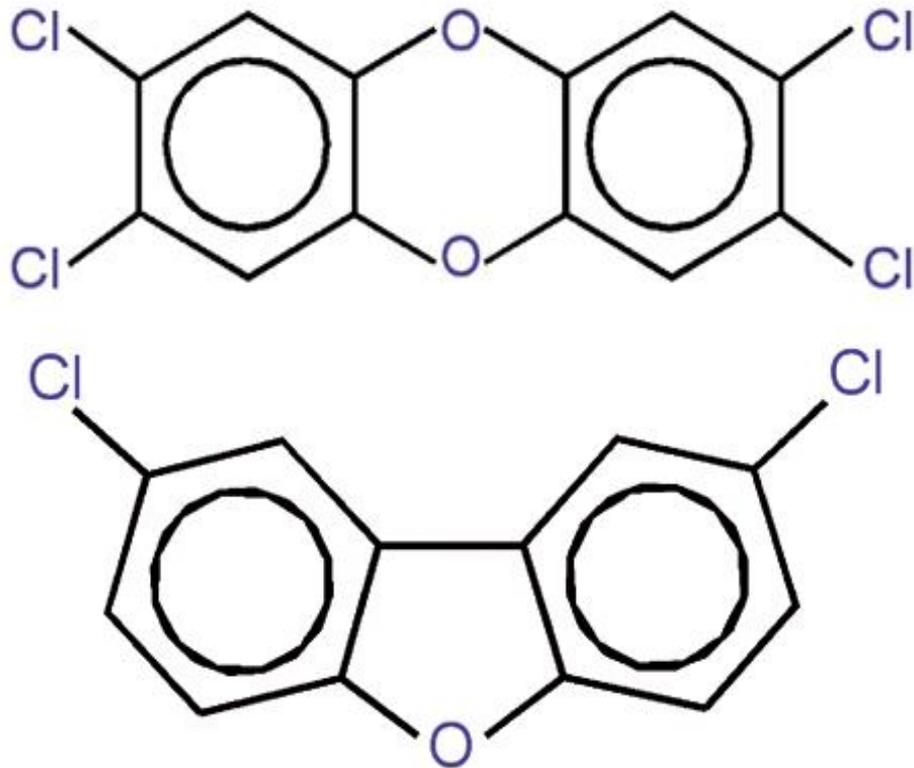
Esposizione del miele alla contaminazione da Cu

Un contributo importante alla presenza di Cu nell'ambiente è conseguente all'impiego di prodotti fitosanitari che lo contengono nelle proprie sostanze attive. Le forme più utilizzate sono idrossido di rame, ossicloruro di Cu, miscela bordolese, solfato di rame tribasico e ossido di rame. L'EFSA ammette una carenza di dati sulla reale contaminazione da rame dei prodotti dell'apicoltura, compreso il miele.

ADI: 0.15 mg Cu/kg bw per day (EFSA, 2008)



Diossine e Policlorobifenili (PCB)



Structure of Polychlorinated Biphenyl (PCB) Molecule

Diossine e Policlorobifenili (PCB)

Caratteristiche chimiche e tossicologiche delle Diossine

Il termine “diossine” si riferisce più specificamente a due gruppi di composti planari triciclici, rappresentati da 75 congeneri di policlorodibenzo-p-diossine (PCDD) e 135 congeneri di policlobenzofurani (PCDF).

I dati tossicologici indicano che più del 90% dell’esposizione umana a diossine deriva dagli alimenti e di questi, quelli di origine animale contribuiscono di norma all’80% dell’esposizione complessiva.

Figura n. 2: Molecola della tetra-cloro-para-dibenzo-diossina

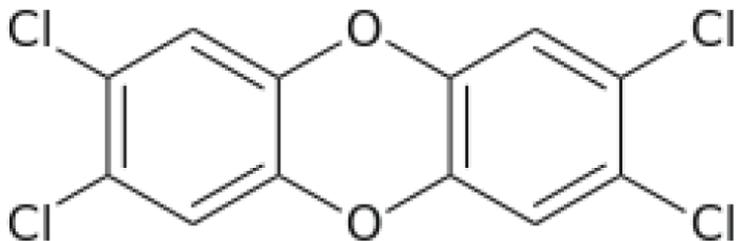
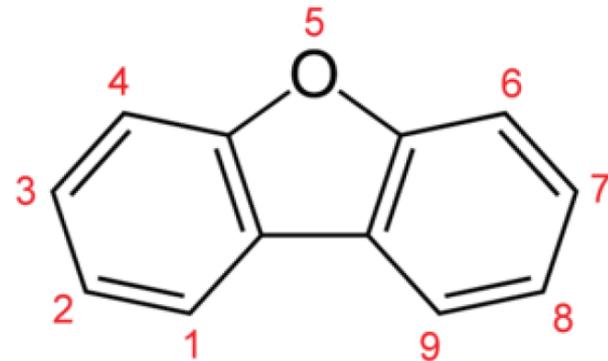


Figura n. 3: Molecola del dibenzofurano



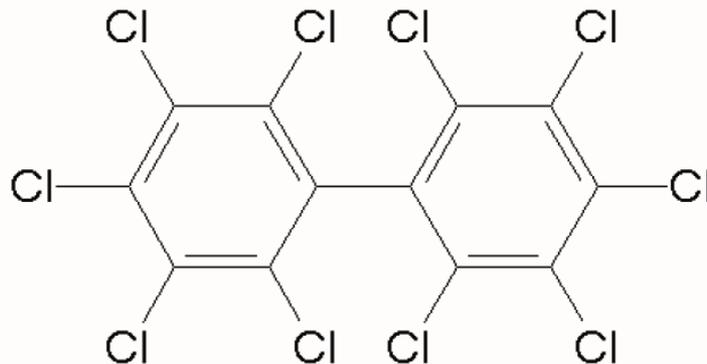
Diossine e Policlorobifenili (PCB)

Caratteristiche chimiche e tossicologiche dei PCB

I PCB sono un gruppo di composti organoclorurati che derivano dalla clorazione del bifenile. Sono costituiti da 209 congeneri diversi che, in base alle caratteristiche strutturali e agli effetti tossicologici, possono essere divisi in due gruppi.

Un gruppo è composto da 12 congeneri che possono facilmente adottare una struttura complanare e mostrare proprietà tossicologiche simili alle diossine. Questo gruppo viene quindi definito “PCB diossina-simili” (DL-PCB). La maggior parte degli altri PCB non mostra tossicità simile alla diossina e sono quindi definiti “PCB non diossina-simili” (NDL-PCB). Tra i PCB NDL, sei sono considerati indicatori appropriati per diversi PCB, in varie matrici campionarie: PCB-28, PCB-52, PCB-101, PCB-138, PCB-153 e PCB-180.

Figura n. 4: Molecola dei PCB



Diossine e Policlorobifenili (PCB)

Esposizione al rischio di Diossine e PCB

La contaminazione ambientale di PCB e diossine in Europa è diminuita a partire dagli anni '70, in seguito agli sforzi congiunti da parte delle pubbliche autorità e dall'industria. A tal fine sono stati fissati livelli d'azione con la Raccomandazione 2013/711/UE 7 che riguarda oltre che le diossine e PCB anche i furani.



Diossine e Policlorobifenili (PCB)

Esposizione del miele alla contaminazione da Diossine e PCB

Table 16: Distribution of the sums of dioxins and DL-PCBs levels and of the 6 NDL-PCB indicators levels in 'Honey and Sugars' food category (from EFSA 2012e)

Samples	LC	Lower bound estimate	Upper bound estimate
N.		Mean	Mean
Dioxins and DL-PCBs in pg TEQWHO05 / g			
41	17.1%	0.00	0.05
NDL-PCB indicators in µg/kg			
85	88.2%	0.10	1.92

LC: samples with concentration below the limit of detection, considered 'left-censored' data.

Diossine e i PCB diossina-simili:

Dose Settimanale Tollerabile (TWI) pari a 14 pg TEQ/kg peso corporeo.

Il rischio alimentare monitorato dalle api

Alcaloidi pirrolizidinici



Alcaloidi pirrolizidinici

Sono note più di **6.000 specie di piante** che biosintetizzano AP (**3% delle piante con fiori**), benché la casistica riferisce principalmente le famiglie botaniche delle *Boraginaceae* (tutti i generi), *Asteraceae* (tribù *Senecioneae* ed *Eupatorieae*), *Fabaceae* (genus *Crotalaria*) e in maniera minore *Orchidaceae* ed *Apocynaceae*.



Heliotropium arborescens



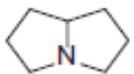
Senecio angulatus

Alcaloidi pirrolizidinici

Ad oggi sono state identificate circa 600 molecole appartenenti a AP.

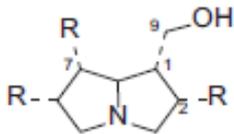
Dal punto di vista chimico, questa classe di alcaloidi è caratterizzata dalla presenza di un sistema ad anello pirrolizidinico (1,2,3,6,7,8-esaidro-5H-pirrolizina), che costituisce la struttura base di vari 1-idrossimetil derivati chiamate necine o basi necine.

A



Pyrrolizidine

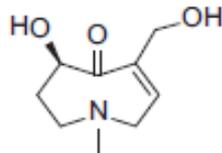
B



R = H or -OH

e.g. 9-hydroxy 1-methylpyrrolizidine

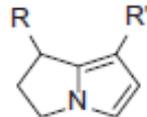
C



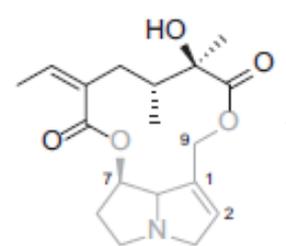
Otonecine

6,7-dihydro-5H-pyrrolizine derivatives
'reactive pyrroles'

D



E



PA senecionine

Necic acid: senecinic acid

Necine base: retronecine

Alcaloidi pirrolizidinici

La tossicità delle AP dipende principalmente dalla natura del legame in posizione 1,2 del sistema ad anello pirrolizidinico. Il metabolismo degli AP 1,2-insaturi, **mediato dal citocromo P-450 nel fegato**, può formare pirroli (diidropirrolizina (DHP) ed esteri di DHP), che possono reagire prontamente con le proteine e formare addotti al DNA (legati covalentemente).

Al contrario, i PA 1,2-saturi non possono formare tali metaboliti reattivi.



Echium vulgare
Erba viperina

Alcaloidi pirrolizidinici

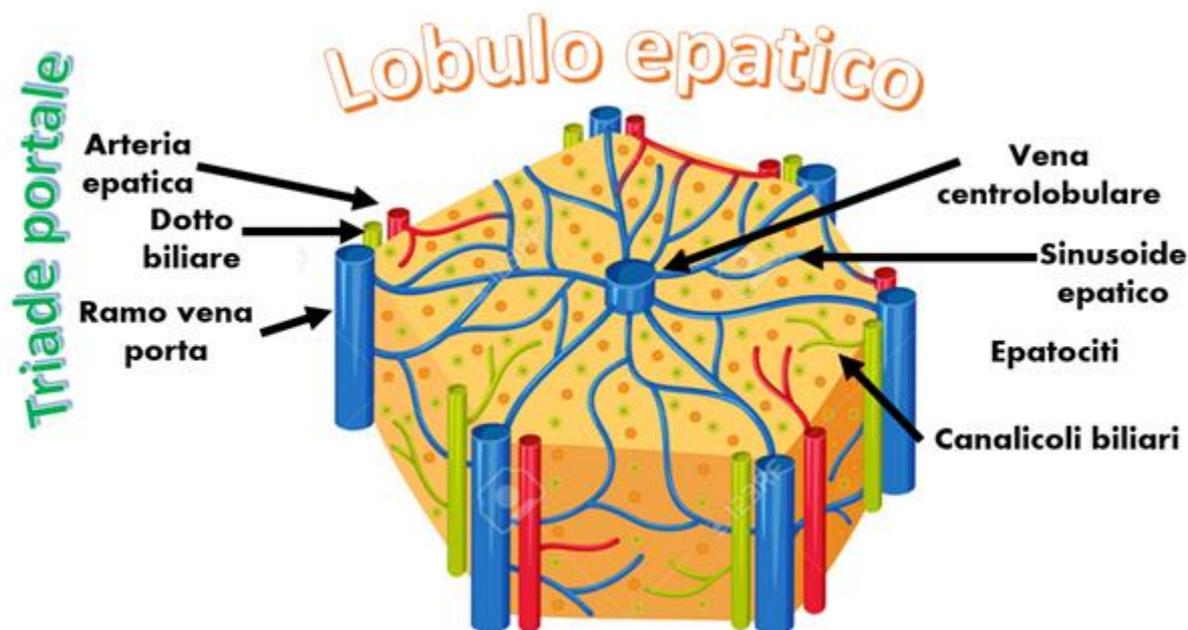
L'intossicazione da alcaloidi pirrolizidinici è comune nelle pecore in Australia. In Nuova Zelanda, la seneciosi negli ovini è meno comune che nei bovini e provoca invariabilmente danni cronici agli epatociti con maggiore assorbimento di rame che porta ad avvelenamento cronico da rame.



Alcaloidi pirrolizidinici

La tossicità degli AP negli esseri umani è ben nota a causa di vari casi di avvelenamento in seguito all'ingestione di AP contenente erbe medicinali e tè, e casi di epidemie tra cui decessi associati al consumo di cereali contaminati da infestanti contenenti AP, con fegato e polmone come principali organi bersaglio.

La tossicità acuta/a breve termine degli AP 1,2-insaturi nell'uomo è caratterizzata principalmente dall'insorgenza della **sindrome da ostruzione sinusoidale epatica**, associata ad un'elevata mortalità, e che può progredire verso la cirrosi epatica. L'EFSA nel 2011 ha identificato la dose più bassa nota di AP associata a malattia acuta a breve termine nell'uomo di circa **2 mg/kg di peso corporeo al giorno**.



Alcaloidi pirrolizidinici

Tossine veicolate da componenti di piante tossiche sono state riscontrate in **miele e polline, preparati erboristici per infusi, miscele di rucola e insalate, prodotti a base di cereali, spezie aromatiche** (levistico, origano e maggiorana), **integratori alimentari**, ed anche in **preparati della medicina tradizionale**. Si aggiunga che gli AP sono stati accertati anche in prodotti di origine animale, quali **latte e prodotti lattiero-caseari**.

Mentre per il miele, le valutazioni risultano ormai supportate dai dati che indicano un rischio relativamente basso per i consumatori, per il polline, i primi dati sul rischio potenziale prospettano una situazione da monitorare. È stato infatti evidenziato che il polline delle piante produttrici di AP può contenere concentrazioni di AP simili a quelle osservate nel tessuto vegetale di origine.

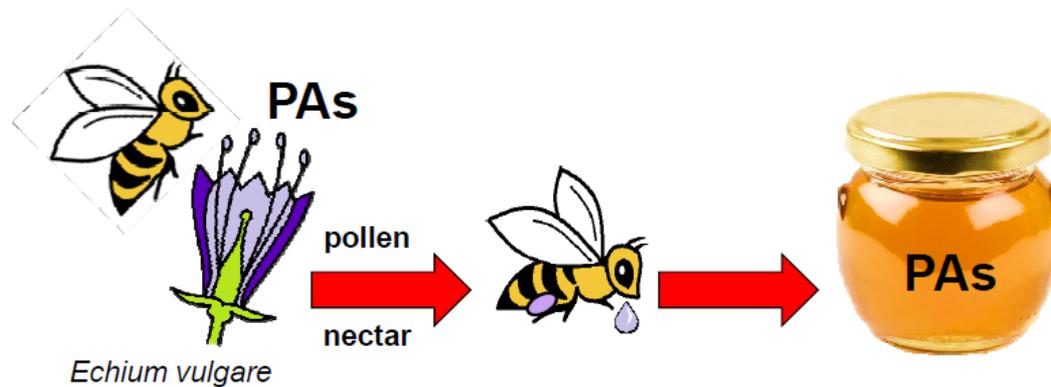
Tuttavia, a fronte di queste anticipazioni, **rimangono ancora poco chiare sia la rilevanza delle piante tossigene nei territori frequentati dagli apicoltori, sia la reale esposizione al rischio per i consumatori.**

Alcaloidi pirrolizidinici

La contaminazione dei prodotti dell'apicoltura è condizionata da:

- Produzione di AP da parte delle piante in grado di produrle;
- Condizioni ambientali;
- Competizione con altre piante più attrattive per le api.

Il polline è ritenuto la principale fonte di contaminazione da AP del miele, ma a causa della bassa concentrazione, **la fonte principale di AP è il nettare.**



Alcaloidi pirrolizidinici

Regolamento (UE) 2020/2040 della Commissione dell'11 dicembre 2020 che modifica il regolamento (CE) n. 1881/2006 per quanto riguarda i tenori massimi di alcaloidi pirrolizidinici in alcuni prodotti alimentari.

Regolamento (UE) 2023/915 della Commissione del 25 aprile 2023 relativo ai tenori massimi di alcuni contaminanti negli alimenti e che abroga il regolamento (CE) n. 1881/2006

Alcaloidi pirrolizidinici

Regolamento (UE) 2023/915 della Commissione del 25 aprile 2023 relativo ai tenori massimi di alcuni contaminanti negli alimenti e che abroga il regolamento (CE) n. 1881/2006

ALLEGATO I

Tenori massimi di alcuni contaminanti negli alimenti

Alcaloidi pirrolizidinici

Il tenore massimo si riferisce alla somma lower bound di **21 alcaloidi pirrolizidinici** e degli **ulteriori 14 alcaloidi pirrolizidinici N-ossidi**.

Gli alcaloidi pirrolizidinici identificabili singolarmente e separatamente con i metodi di analisi utilizzati devono essere quantificati e inclusi nella somma.

Alcaloidi pirrolizidinici

Regolamento (UE) 2023/915 della Commissione del 25 aprile 2023 relativo ai tenori massimi di alcuni contaminanti negli alimenti e che abroga il regolamento (CE) n. 1881/2006

ALLEGATO I

Tenori massimi di alcuni contaminanti negli alimenti

Alcaloidi pirrolizidinici	Tenore massimo (μ /kg)	Osservazioni
Integratori alimentari a base di polline Polline e prodotti a base di polline	500	Il tenore massimo si applica agli integratori alimentari come immessi sul mercato

Regolamento (UE) 2020/2040: I prodotti alimentari elencati nell'allegato immessi legalmente sul mercato prima del 1° luglio 2022 possono rimanere sul mercato fino al 31 dicembre 2023.

Regolamento (UE) 2023/915: Gli alimenti che sono stati legalmente immessi sul mercato prima del 1° luglio 2022 possono rimanere sul mercato fino al 31 dicembre 2023 per quanto riguarda i tenori massimi di alcaloidi pirrolizidinici di cui all'allegato I, punto 2.4.

Le microplastiche



Le microplastiche

Significato di «*microplastiche*»

Con il termine di microplastiche si identifica un insieme eterogeneo per origine, dimensione, forma, composizione, colore, di particelle di plastica di dimensioni comprese fra $1\mu\text{m}$ e 5mm . Al di sotto del limite $<1\mu\text{m}$, le particelle di plastica sono indicate con il termine di nanoplastiche.



Le microplastiche

Morfologia e composizione delle «*microplastiche*»

Potendo utilizzare un linguaggio meno ricercato, dovremmo dire che le microplastiche rappresentano semplicemente la dimensione particulata dei rifiuti plastici che stanno inquinando tutto il mondo.



Le microplastiche

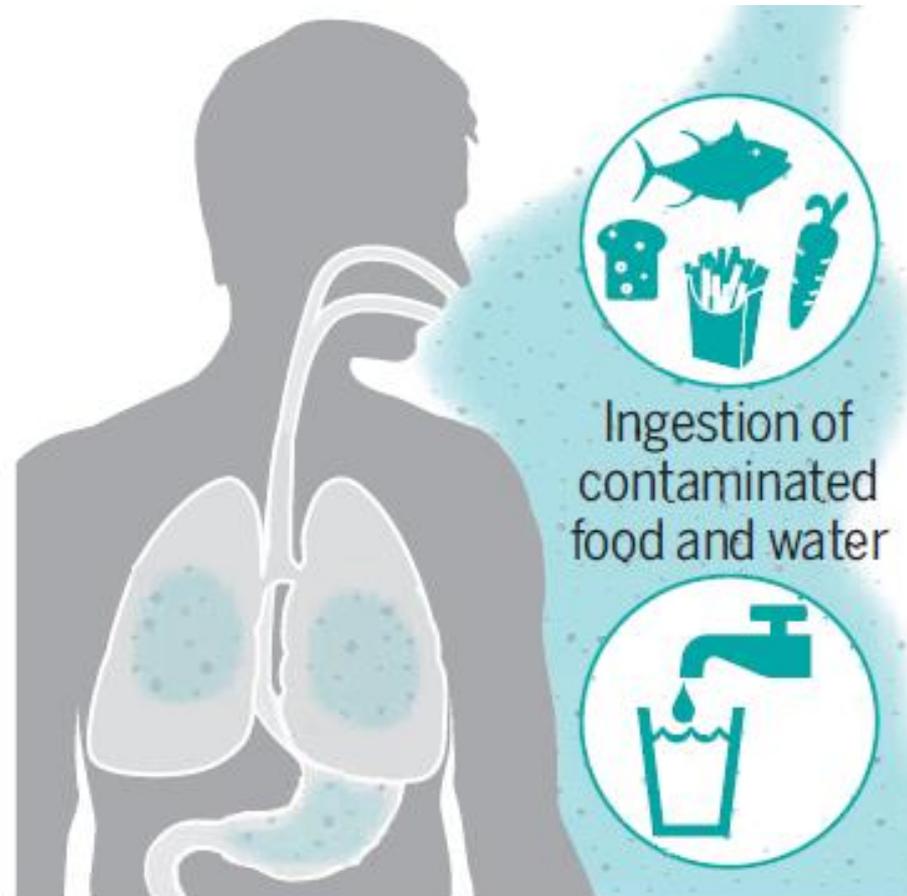
Effetti tossicologici sull'uomo

Gli effetti ipotizzati dell'esposizione a micro e nanoplastiche vanno dalla persistenza all'interno dell'organismo, in vari distretti, a danni prodotti dai diversi composti chimici che li accompagnano, così come dai batteri patogeni presenti sulla loro elevata superficie specifica.

Tra gli effetti tossicologici di coadiuvanti microplastici, come bisfenolo A e pigmenti, sono stati segnalati disturbi ormonali, inibizione dell'appetito, alterato sviluppo neurologico e metabolico, cancerogenesi, nonché disturbi nello sviluppo del sistema immunitario

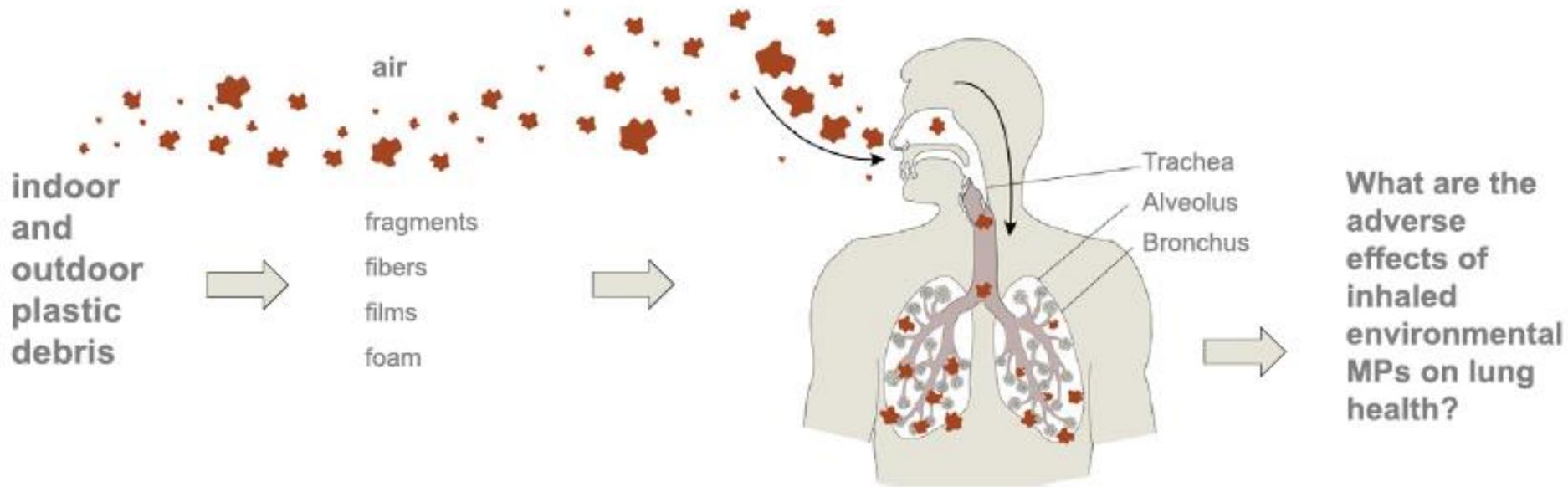
Le microplastiche

Via d'ingresso gastro-enterica



Le microplastiche

Via d'ingresso respiratoria

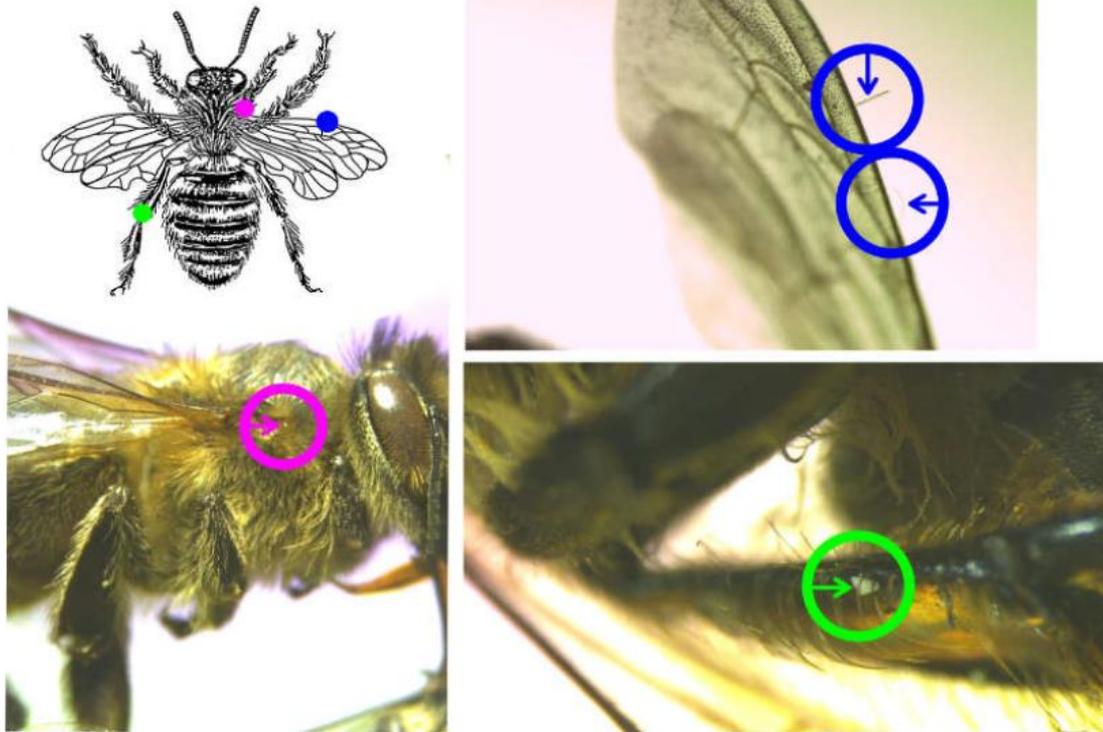


Le microplastiche

Microplastiche e le api

Le api dimostrano di raccogliere le microplastiche presenti nell'ambiente che frequentano.

Microplastics in honeybees



Carlos Edo, Amadeo R. Fernández-Alba, Flemming Vejsnæs, Jozef J.M. van der Steen, Francisca Fernández-Piñas, Roberto Rosal. Honeybees as active samplers for microplastics. *Science of The Total Environment*, 2021, 144481, <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.144481>.

D'Ascenzi C: Il rischio alimentare monitorato dalle api

Le microplastiche

Microplastiche e le api

I risultati di alcune ricerche suggeriscono che l'esposizione acuta a microplastiche non induce mortalità nelle api mellifere. Tuttavia, il comportamento delle api non impedisce loro di ingerire microplastiche presenti nell'acqua o in altre fonti, per le quali non possono essere esclusi effetti patogeni, anche letali per esposizioni a lungo termine.



Micaela Buteler, Andrea Marina Alma, Teodoro Stadler, Ariane Carnebia Gingold, María Celeste Manattini, Mariana Lozada. 2022. Acute toxicity of microplastic fibers to honeybees and effects on foraging behavior. *Science of the Total Environment* 822 (2022) 153320. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.153320>

D'Ascenzi C: Il rischio alimentare monitorato dalle api

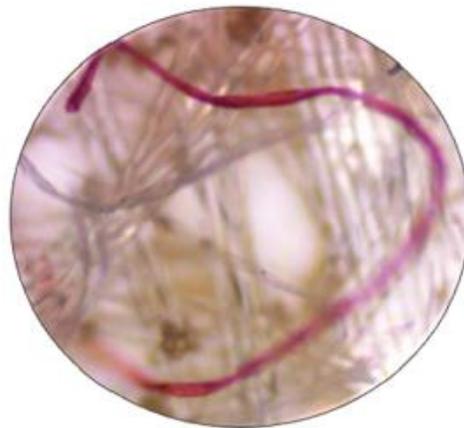
Le microplastiche

Microplastiche e i prodotti dell'apicoltura

L'ampia diffusione e pervasività delle micro e nanoplastiche ci induce a pensare che anche i prodotti dell'apicoltura subiscano la contaminazione di questo particolare

Diaz-Basantes *et alii* hanno riscontrato microplastiche nel 12% dei campioni di mieli industriali e artigianali prodotti in Ecuador.

Anche uno studio in Danimarca ha trovato microplastiche in campioni di miele di apiari sia suburbani che rurali.



Diaz-Basantes, M.F.; Conesa, J.A.; Fullana, A. Microplastics in Honey, Beer, Milk and Refreshments in Ecuador as Emerging Contaminants. *Sustainability* 2020, *12*, 5514. <https://doi.org/10.3390/su12145514>

D'Ascenzi C: Il rischio alimentare monitorato dalle api

Le microplastiche

Microplastiche e i prodotti dell'apicoltura

Una ricerca svizzera ha focalizzato sugli errori che possono influenzare l'accertamento di microplastiche nel miele, considerato che non ci sono al momento metodi accreditati. Lo studio dimostra che fra i *frammenti* riscontrati, le particelle nere, che rappresentavano la maggioranza delle particelle, erano identificabili come fuliggine, molto probabilmente derivata dall'uso degli affumicatori.

La maggior parte delle *fibre* era identificata come cellulosa o polietilene tereftalato, molto probabilmente di origine tessile.

Un numero inferiore di frammenti erano correlati a vetro, polisaccaridi o chitina e poche particelle bluastre contenevano pigmento di ftalocianina di rame. Non sono state trovate prove che i campioni di miele fossero significativamente contaminati da particelle di microplastica.

Peter Mühlischlegel, Armin Hauk, Ulrich Walter & Robert Sieber (2017) Lack of evidence for microplastic contamination in honey, *Food Additives & Contaminants: Part A*, 34:11, 1982-1989, DOI: [10.1080/19440049.2017.1347281](https://doi.org/10.1080/19440049.2017.1347281)

Le microplastiche

Grazie per l'attenzione





API E AMBIENTE

Il rischio alimentare monitorato dalle api

Prof. Carlo D'Ascenzi

SVETAP/Università di Pisa



Cortona, Giovedì 14 Dicembre 2023